ARCHIVES ROUMAINES

DE

PATHOLOGIE EXPÉRIMENTALE

ET DE

MICROBIOLOGIE

Publiées sous la Direction de

J. CANTACUZÈNE

Professeur à la Faculté de Médecine de Bucarest

Tome IV. — N° 1

Mars 1931

MASSON & C^IE^, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, PARIS

Digitized by the Internet Archive
in 2025

https://archive.org/details/romanian-archives-of-microbiology-and-immunology_1931-03_4_1

ARCHIVES ROUMAINES
DE PATHOLOGIE EXPÉRIMENTALE
ET DE MICROBIOLOGIE

TOME IV *N° 1* *MARS 1931*

MÉMOIRES ORIGINAUX

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA COMPOSITION CHIMIQUE (CENDRES) DES BACTÉRIES

(Premier mémoire)

par

A. DAMBOVICEANU et Cella BARBER

(Travail du Laboratoire de Médecine expérimentale et de l'Institut de Sérologie de Bucarest)

INTRODUCTION

Les progrès réalisés dans les derniers temps en bactériologie ont complètement transformé certaines conceptions qui paraissaient définitivement établies jusqu'à ce jour.

L'importance qu'unanimement on accorde aux phénomènes ayant rapport avec le problème de la variabilité de l'espèce a provoqué un très grand nombre de recherches.

L'étude des modifications morphologiques ou physiologiques des microbes a permis, malgré la diversité des résultats obtenus, de faire des observations intéressantes concernant surtout les

changements qui aboutissent à l'apparition de races microbiennes nouvelles.

Dans le groupe des microbes pathogènes, ce sont surtout les questions relatives à l'atténuation de la virulence, accompagnée, ou non, de changements profonds des caractères antigéniques des germes, qui ont été étudiées.

Tout récemment, la découverte de l'existence de formes filtrables, chez certaines espèces microbiennes, ainsi que l'étude du rôle et de la spécificité des bactériophages, ont ajouté un chapitre nouveau à la microbiologie classique et ont donné une orientation insoupçonnée aux problèmes capables de solliciter l'attention des expérimentateurs.

Raulin et Pasteur, les premiers, avaient démontré que la composition du milieu a une influence considérable non seulement sur le développement, mais aussi sur les propriétés des microorganismes. Depuis, grâce aux travaux de nombreux expérimentateurs, et surtout ceux de G. Bertrand et de ses collaborateurs, on s'est rendu compte du rôle incontestable que jouent les infiniments petits chimiques, comme par exemple les traces de manganèse, de fer, de zinc, etc., dans le métabolisme des êtres vivants.

Jules Bordet, dans un travail publié récemment, a constaté qu'il suffisait de supprimer le *calcium* d'un milieu de culture pour changer complètement l'aspect et les caractères de la bactéridie charbonneuse ou du micrococcus prodigiosus.

Sur le conseil et sous la direction du professeur J. Cantacuzène, il nous a semblé intéressant de voir si, en analysant la composition des cendres des bactéries, on ne pourrait pas arriver à les caractériser, d'après l'affinité qu'ils présenteraient pour différents éléments d'origine minérale, tels que le manganèse, le fer, le potassium, le phosphore, le calcium, etc.

Nous exposerons, dans ce mémoire, les résultats d'un travail qui n'est que le début d'une longue série de recherches. Il nous a pourtant permis de faire certaines observations, intéressantes surtout par les idées qu'elles peuvent suggérer.

HISTORIQUE

Les premiers travaux ayant pour but l'étude des cendres bactériennes datent de 1892. Voici un tableau où l'on trouve groupés les chiffres donnés par les différents auteurs pour le contenu en cendres des microbes.

	Grammes de cendres pour 100 grammes de microbes desséchés	
Bactéries de la putréfaction.....	3,04	(Sternberg).
Bacille de Friedlander.....	30,13	(Brieger).
Micrococus Vinegar	6,94	(Naegeli et Loew).
Bacterium prodigiosus	13,47	(Kappes).
Bacille tuberculeux	8	(Hammerschlag).
Corynebacterium dyphteriæ	4,57	(Dzierkowscky et Rekowscky).

Ces premières recherches ne pouvaient permettre qu'une orientation assez vague relativement à la caractérisation des différentes espèces, d'autant plus que les auteurs ont malheureusement négligé de tenir compte de certains facteurs dont l'influence sur le taux et la composition des cendres microbiennes a été reconnue ultérieurement comme très importante.

Gottschlich (1912), en étudiant le vibrion cholérique, constatait par exemple que les cultures obtenues :

sur du bouillon avec 1 % de NaCl contenaient 8-10 grammes de cendres pour 100 grammes de microbes (desséchés à 105°) ;
celles obtenues sur du bouillon avec 3 % de phosphates contenaient 20-25 grammes de cendres pour 100 grammes de microbes (desséchés à 105°) ;
et enfin celles obtenues sur du bouillon avec 3 % de NaCl contenaient 22-28 grammes de cendres pour 100 grammes de microbes (desséchés à 105°).

De même, Wells avait observé que le vibrion cholérique donnait 25,87 grammes de cendres pour 100, lorsqu'il était cultivé sur du bouillon ordinaire, et seulement 13,7 grammes de cendres pour 100, lorsqu'il était cultivé sur le milieu synthétique d'Uschinsky.

D'après Cramer, le vibrion cholérique, cultivé sur un milieu habituel de culture, contient des cendres avec la composition suivante :

Cl	17,02 %	Na	32,06 %
P^2O^5	20,48 %	Ca	0,98 %
SO^4	8,55 %	Mg	traces.
K	6,32 %		

Si l'on augmente le contenu en NaCl du même milieu, les cendres microbiennes contiennent deux fois plus de NaCl et des quantités moindres de sulfates et de phosphates, les premiers baissent de 8,55 à 1 %, les derniers de 20,48 % à 9,64 %. Si l'on

augmente le contenu en phosphates du milieu de culture, ce sont les chlorures qui baissent de 17,02 à 9,99 % et les sulfates de 8,55 à 2,24 %; les phosphates, par contre, s'élèvent de 20,48 à 34,30 grammes pour 100 grammes de microbes desséchés.

Von Schweinitz et Dorset cultivent le bacille tuberculeux sur du bouillon à 1 % de peptone, 0,5 % de NaCl et de 7 % de glycérine, ainsi que sur des milieux synthétiques. Ils constatent que les cultures sur bouillon contiennent 4 grammes de cendres pour 100, et celles sur milieu synthétique ne contiennent que 2 grammes de cendres pour 100. La composition des cendres du bacille tuberculeux cultivé sur bouillon glycériné est la suivante :

Na^2O	13,62 %	MgO	11,55 %
K^2O	6,35 %	Carbone	0,57 %
CaO	12,64 %	P^2O^5	55,23 %

Comme les microbes tués par la chaleur étaient lavés à plusieurs reprises avec de l'eau bouillante, les auteurs supposent que l'absence des chlorures et des sulfates dans les cendres s'explique par le fait que ces éléments avaient été entraînés par les eaux de lavage.

Dans une étude sur le bacille tuberculeux, Frouin et Guillaumie groupent les chiffres donnés par les différents auteurs, pour le contenu en cendres des bacilles tuberculeux, dans un tableau que nous reproduisons plus bas :

	Bacille tuberculeux : grammes de cendres pour 100
Hammerschlag	8
Kraus et Siebert	7,52
Kresling	2,55
De Schweinitz et Dorset	2,51
Goris	2,50
Johnson et Brown	5,48

Ils expliquent les différences constatées par le fait que les différents auteurs avaient utilisé des milieux de culture dont la composition n'était pas toujours la même. En effet, ils constatent que la richesse d'une culture dépend des proportions relatives des différents constituants du milieu. Le contenu en cendres des microbes augmente avec la concentration saline du milieu. L'action favorisante d'un élément est conditionnée par les proportions des constituants organiques et anorganiques du milieu, indispensables au développement du germe. Un excès de potas-

sium, d'azote ou de carbone détermine un déséquilibre dans le milieu qui se manifeste par une baisse considérable du poids total de la récolte.

Kayser (1894), en déterminant le contenu en N du bacille lactique, constate que celui-ci varie avec l'âge des cultures.

Des cultures de	3 jours	contiennent	9,1 % d'azote
Celles de	12 —	—	10,8 — —
Et enfin celles de	45 —	—	11,8 — —

Nikolski trouve que, tandis que les cultures de Mucor amylomices vieilles de quatre jours contiennent 10 % d'azote, celles âgées de quatorze jours ne contiennent que 3,7 % grammes d'azote.

Frouin et Guillaumie, dans leur étude sur le bacille tuberculeux, ont trouvé des résultats similaires en ce qui concerne cette espèce : la composition des cendres varie aussi en fonction de l'âge des cultures. Les taux des cendres du bacille tuberculeux baisse à mesure que les cultures vieillissent; le taux des substances organiques augmente, par contre, comme le montre le tableau suivant :

Age des cultures	Substances organiques : grammes pour 100	Cendres : grammes pour 100
—	—	—
10 jours.....	0,176	3,88
16 —	0,204	3,72
30 —	0,246	2,70
40 —	0,235	1,92

Guillemin et Larson (1922), en soumettant pendant plusieurs heures des cultures de bacterium coli, tuées par la chaleur, à l'action prolongée d'un excès d'eau distillée, constatent que la cellule microbienne contient des éléments de nature minérale qui peuvent être divisés en 3 groupes :

1° Eléments complètement diffusibles que l'on retrouve en totalité dans les eaux de lavage (Cl).;

2° Eléments semi-diffusibles, qui ne passent qu'en partie dans les eaux de lavage (P et Na), et enfin;

3° Eléments fixes que l'on retrouve en totalité dans la cellule microbienne (K et Fer).

Les éléments, comme le potassium et le Fer et une partie du phosphore, sont pour les auteurs intimement liés au protoplasme des cellules; par contre, le Na et surtout le Cl n'auraient dans la

vie des cellules que le rôle de régulateurs de la pression osmotique. Une élévation de la concentration saline du milieu a pour conséquence immédiate l'augmentation du taux des cendres microbiennes. Le taux des sels fixes reste constant, quelles que soient les conditions de cultures des microbes; les variations trouvées par Cramer et par d'autres auteurs ne sont dues qu'aux variations des sels diffusibles.

Nous citons pour finir une série de travaux dans lesquels les auteurs ont étudié la composition des cendres, ainsi que les éléments indispensables au développement des micro-organismes.

Kappes donne les chiffres suivants pour la composition des cendres de Bacterium prodigiosus et de Bacterium xerosis :

	Bacterium prodigiosus	Bacterium xerosis
Na	3,93 %	2,34 %
K	1,55 %	1,06 %
Ca	0,56 %	0,28 %
Mg	1,05 %	0,58 %
PO^4H^3	5,12 %	3,28 %
Chlore	0,66 %	0,06 %

Baudran (1906) trouve que la membrane du bacille tuberculeux est imprégnée de silice et de calcium. Il signale, le premier, la présence du fer (0,006-0,008 %) et des traces de manganèse dans ce bacille.

Rahn (1917) constate que les éléments nécessaires à la cellule bactérienne sont : le potassium, le calcium, le magnésium, le fer et le manganèse.

Morey arrive à la même conclusion.

Goris (1920) étudie la composition des cendres du bacille tuberculeux en dosant le P^2O^5, le Na, le K, le Mg, le Ca et le SO^4H^2. Il obtient les chiffres suivants :

P^2O^5	54 %	Mg	8,4 %
Na	17 %	Ca	0,03 %
K	11,4 %	SO^4H^2	0,03 %

Le fer, le zinc et le manganèse n'étaient présents qu'à l'état de *traces*. C'est surtout les cultures d'Aspergillus niger sur milieux synthétiques qui ont permis à la majorité des auteurs (Roberg, Buromsky, Javillier) d'étudier l'action des différents éléments sur le développement des micro-organismes. Un fait indiscutable se dégage de tous ces travaux : le fer et le zinc sont

absolument indispensables à la vie de l'Aspergillus. Ils ne peuvent pas être remplacés par un autre élément, pas plus qu'ils ne peuvent se remplacer entre eux.

Brown et Goldschmidt se servent toujours des milieux synthétiques pour étudier le rôle des substances minérales dans le développement et le métabolisme des bactéries du groupe typhocoli. En privant le milieu tour à tour des éléments qu'ils veulent étudier, ils finissent par préciser l'action favorisante du K, du Na, du Mg et du soufre sur le développement des microbes. Ces éléments ne semblent pourtant pas être indispensables à la vie des mêmes micro-organismes.

En étudiant le bacille diphtérique, Brown et Mundel trouvent que le K, le Cl, le Mg et le S sont nécessaires sans être indispensables au développement du bacille diphtérique. Le P, par contre, ne peut être remplacé par aucun autre élément.

Friedlein confirme les résultats de Brown en étudiant le métabolisme des éléments suivants : C, N, S, P, Mg, K, Na et Cl dans les cultures du paratyphique B et du bacille pyocyanique sur milieux synthétiques.

Il ressort de ces dernières recherches que :

Le *phosphore* est absolument indispensable au développement du bacille tuberculeux (von Schweinitz et Dorset, Frouin et Guillaumie), du bacille typhique et des paratyphiques A et B, du colibacille, du pyocyanique, et des diphtériques (Brown, Friedlein et Mundel).

Le *magnésium* et le *calcium* sont indispensables au développement du bacille tuberculeux; ils favorisent, sans être indispensables, le développement des bacilles typhiques, paratyphiques, coli, diptériques et pyocyaniques.

Le *potassium* est indispensable au bacille tuberculeux et favorise le développement de toutes les autres bactéries étudiées.

Le *sodium*, sans être indispensable, favorise le développement de tous les microbes.

Leulier et Sédaillan ont pu démontrer que, lorsque le bacille diphtérique était cultivé sur des milieux contenant des sels de cuivre, il fixait des quantités appréciables de cet élément, que l'on retrouvait aussi bien dans les corps microbiens (0,15 à 0,20 gramme de Cu pour 1000) que dans la toxine (0,8 — 1,20 gramme pour 100 grammes de toxine desséchée).

Lorsque le milieu de culture contient des quantités de cuivre qui ne dépassent pas 0,05 gramme pour 1000, le bacille diphté-

rique se développe normalement, en fixant des proportions de cuivre inconnues pour d'autres microbes.

Le cuivre semble être intimement lié au protoplasme de la cellule microbienne, car des lavages successifs avec de l'eau distillée, de l'acide chlorhydrique et de l'ammoniaque n'ont pas permis aux auteurs de le séparer des corps microbiens.

RECHERCHES PERSONNELLES

Les travaux que nous venons de résumer brièvement nous permettent de dégager trois faits d'une importance capitale pour ceux qui veulent entreprendre une étude chimique des bactéries. Les quantités constituants organiques et *anorganiques* de la cellule microbienne sont fortement influencées :

1° *Par la composition chimique du milieu de culture ;*

2° *Par l'âge des cultures,* et enfin

3° *Par la méthode que l'on emploie pour récolter les corps microbiens.*

Il est évident que, pour arriver à des conclusions plus ou moins précises, il fallait travailler avec tous les microbes que nous voulions analyser dans des conditions strictement comparables, c'est-à-dire :

a) Choisir un milieu de culture avec une composition minérale *relativement constante ;*

b) Déterminer le taux et la composition des cendres du milieu de culture avant chaque ensemencement ;

c) Déterminer la composition des cendres du milieu de culture qui a servi à une récolte, afin de voir si l'affinité des microbes pour un élément quelconque a eu pour conséquence immédiate la diminution du taux de cet élément dans le milieu ;

d) Travailler toujours avec des espèces microbiennes *connues* et *strictement déterminées,* afin que la diversité des chiffres obtenus ne soit pas due au fait qu'on avait opéré sur des races qui, tout en étant très voisines, différaient par certains caractères morphologiques et biologiques ;

e) Analyser des cultures du même âge ;

f) Eviter la perte des éléments diffusibles par des lavages trop prolongés.

Nous avons entrepris cette première série de recherches sur les espèces microbiennes suivantes :

I. — Groupe des cocci.....	Straphylocoques : blanc, doré et citrin. Micrococus catharalis (1).
II. — Groupe des bacilles typhiques-paratyphiques A et B et bacterium coli.....	Bacterium coli. Bacille typhique. — paratyphique A. — — B. — suipestifer. — enteritidis Gärtner. — d'Aertrycke formes.... *Rough* et *Smooth*.
III. — Groupe des bacilles dysentériques.....	Bacilles Flexner. — Shiga. — Y.
IV. — Groupe des vibrions cholériques et paracholériques	Vibrion cholérique Pasteur (2) formes..... *Rough* et *Smooth*. Vibrion cholérique 658. Vibrion 20 — Vibrion 20 b — Vibrion 23 : Vibrions qui ne sont pas agglutinés par le sérum anticholérique.
V. — Groupe du bacille du charbon	Bacillus anthracis, formes virulentes..... *Rough* et *Smooth*. Bacillus anthracis, formes atténuées..... Vaccin I, Vaccin II
VI. —	Bacillus tumefaciens.

Parmi les éléments constitutifs des cendres, nos recherches ont porté sur :

1° Le sodium, le potassium, le calcium, le magnésium, le fer, le phosphore et le manganèse.

Malgré la sensibilité de la technique de G. Bertrand, employée pour la recherche et le dosage du manganèse, nous n'avons pas pu mettre cet élément en évidence dans le milieu de culture (600 grammes), pas plus que dans les cendres des microbes analysés; 300 milligrammes de microbes desséchés *ne contenaient même pas de traces de Mn.*

(1) Nous avons été obligés de renoncer, pour le moment, au groupe important des streptocoques, parce qu'ils se développaient trop peu sur le milieu unique utilisé dans cette série d'expériences. C'est pour le même motif que nous n'avons pas étudié les méningocoques et les pneumocoques.

(2) Nous avons employé, pour les différentes races de vibrions, les dénominations qu'ils portaient dans la collection de l'Institut de Sérologie de Bucarest.

Technique

A. *Préparation du milieu de culture.*

On ajoute, à 500 grammes de viande de bœuf dégraissée et finement hachée, 1000 centicubes d'eau courante. On laisse macérer pendant deux à trois heures. Le mélange est chauffé ensuite pendant 10 minutes à 100°. On filtre l'extrait de viande ainsi obtenu d'abord sur toile, puis sur du papier Chardin préalablement imbibé d'eau, afin de débarrasser le bouillon des graisses.

On ajoute, au filtrat, 10 grammes de peptone Witte et 5 grammes de NaCl (puriss).

On neutralise au papier tournesolé avec de la soude à 10 %, on ajoute 20 grammes de gélose. On chauffe à 100° et l'on maintient le mélange à cette température jusqu'à la solubilisation complète de la gélose. On complète le volume à 1000 centicubes et on chauffe pendant une heure à l'autoclave à 120°. On ajuste la réaction au *p*H 7,6 (méthode colorimétrique de Michaelis) ; on refiltre à chaud (à l'autoclave à la pression ordinaire) sur du papier Chardin préalablement imbibé d'eau, et enfin on répartit le milieu dans des tubes de culture et dans des plaques Roux. On stérilise pendant 20 minutes à 115° et on laisse refroidir.

Ce milieu solide nous permettait de faire la récolte et les lavages des cultures avec plus de rapidité.

B. *Ensemencement.*

Les microbes provenant de la collection de l'Institut de Sérologie de Bucarest étaient adaptés préalablement à ce milieu de culture par deux repiquages successifs. On émulsionnait ensuite une culture de vingt-quatre heures dans du sérum physiologique et on ensemençait une série de 20 plaques Roux (pour chaque récolte), avec des quantités égales d'émulsion microbienne. On maintenait les plaques au thermostat à 37°, pendant vingt-quatre heures.

Toutes nos analyses ont été faites sur des cultures de vingt-quatre heures.

Nous avons choisi cet intervalle de temps pour les motifs suivants :

1° Il représente à peu près le temps nécessaire pour l'obtention d'une récolte assez abondante.

2° Des cultures plus âgées pourraient être plus abondantes, mais elles présenteraient le désavantage de contenir un trop grand nombre de cadavres microbiens. Nicolle et Alilaire ont prouvé que la composition chimique des microbes vivants est très différente de celle des microbes morts. Les différences s'accentuent à mesure que la culture s'enrichit en cadavres microbiens.

3° L'âge des cultures a une influence considérable sur la composition chimique des bactéries, comme le prouvent les travaux cités au chapitre précédent.

En général, toutes les espèces microbiennes analysées par nous se développaient bien sur notre milieu et donnaient des cultures assez abondantes au bout de vingt-quatre heures.

Le groupe des staphylocoques, ainsi que celui de la bactéridie charbonneuse, se développaient le plus abondamment; venaient ensuite les bacilles dysentériques, les bacilles coli, Aertrycke et les vibrions cholériques. C'est le para A, le Suipestifer, le Gärtner et le micrococcus catarrhalis qui donnaient les cultures les plus pauvres.

Comme l'affinité des cellules pour les différents éléments anorganiques peut être influencée par la réaction du milieu ambiant, nous avons déterminé le *p*H du milieu avant chaque ensemencement et après chaque récolte. Il a toujours oscillé entre 7,6 et 8,4, même lorsqu'il s'agissait du bacterium coli. Cette absence d'acidification est due au fait que le glucose n'existait pas dans le milieu de culture. Les réactions du glucose ont été constamment négatives.

C. *Récolte des microbes.*

Les cultures de vingt-quatre heures sont émulsionnées dans une solution de NaCl à 7,50 %, à raison de 20 centicubes pour chaque plaque Roux. On agite légèrement pour laver la surface de la gélose et l'on recueille toute l'émulsion dans de grands tubes de centrifugeuse (500 centicubes). On centrifuge trente minutes (2000-3000 tours par minute). On décante le liquide surnageant, on lave par centrifugations et décantations successives encore une fois avec la solution de NaCl et deux fois avec de l'eau tridistillée.

Les dernières eaux de lavages ne donnaient plus en général la réaction du sodium.

Toutes ces opérations ont été faites sur des microbes vivants et dans le minimum de temps possible. Elles ne duraient pas

plus de trois à quatre heures. De cette façon, on évitait autant que possible la perte de certains éléments qui auraient pu diffuser dans les eaux de lavage.

Après la dernière centrifugation et décantation, on transvasait le culot microbien dans des capsules de platine et on le desséchait à 105°, jusqu'à poids constant. Les microbes desséchés étaient finement pulvérisés et conservés dans des tubes en verre paraffinés et à l'abri de l'humidité.

Préparation des cendres microbiennes

Pour le dosage des cendres, on a employé la méthode classique, c'est-à-dire 0,3-0,5 gramme de substances sont calcinés dans une capsule de platine, au four électrique, à une température ne dépassant pas le rouge sombre. Pour faire disparaître les dernières traces de charbon, on laisse refroidir, on ajoute 4 à 5 gouttes d'acide azotique concentré, puis 3 à 4 gouttes d'acide sulfurique concentré, on évapore à basse température jusqu'à la disparition de vapeurs blanches, puis l'on remet au rouge sombre jusqu'au blanchissement complet des cendres.

Pour le dosage de chacun des éléments, nous avons préféré employer la méthode préconisée par Grabar, c'est-à-dire la minéralisation liquide avec de l'acide azotique concentré (densité, 1,40) à une température ne dépassant pas 180°. De la sorte, on est sûr d'éviter les pertes dues à la volatilisation de certains éléments ou l'insolubilisation des phosphates, lorsqu'on travaille dans des capsules en porcelaine.

Voici comment nous avons appliqué cette méthode dans nos recherches.

0,1-0,3 gramme de microbes desséchés, *ou 5 à 10 grammes* de milieu de culture (lorsqu'on déterminait la composition des cendres de ce dernier) sont introduits dans des tubes en verre Pyrex 20 × 20 (lavés préalablement avec de l'acide azotique concentré et des vapeurs d'eau distillée).

On ajoute à chaque tube 3 centicubes d'acide azotique concentré et on chauffe au bain-marie jusqu'à la disparition complète de l'écume qui se forme au premier abord. On passe les tubes sur un bain d'huile de vaseline et l'on chauffe à 140°-160°, jusqu'à l'évaporation de l'excès d'acide. On chauffe ensuite à 180°, jusqu'à la disparition complète des substances organiques. A mesure que le liquide s'évapore, on le remplace par de petites

quantités d'acide azotique concentré (2 à 3 centicubes). Lorsque la décoloration est évidente, la destruction organique étant terminée, on peut évaporer jusqu'à la siccité.

Le résidu minéral, contenu dans chacun des tubes, ne servait qu'à un seul dosage. En général on préparait, pour le dosage de chaque élément constitutif, des cendres de chaque espèce microbienne étudiée, 2 à 3 tubes. De la sorte, on avait le contrôle immédiat du dosage. Nous avons toujours obtenu des résultats superposables qui ne différaient entre eux que par des chiffres compris dans les erreurs admises pour les différentes méthodes employées.

Techniques spéciales pour le dosage des éléments constitutifs des cendres

1° *Dosage du sodium.* — Technique de Blanchetière modifiée par Grabar. Principe: précipitation du sodium sous une forme lourde et insoluble, l'acétate triple d'uranium, de magnésium et de sodium, ou le sel de Streng.

Erreur possible, 3 %.

Réactifs nécessaires :

Réactif A	Acétate d'uranium	100 gr.
	Acide acétique crist.	50 —
	Eau distillée, q. s. p.	1000 —
Réactif B	Acétate de Mg	333 —
	Acide acétique crist.	60 —
	Eau distillée q. s. p.	1000 gr.

On garde les solutions dans des flacons paraffinés, à l'abri de la lumière. Au moment de l'emploi, on mélange des parties égales de A et B.

Dosage. — Le résidu minéral obtenu, comme il a été dit au paragraphe précédent, est repris avec 5 à 6 centicubes d'eau tri-distillée, acidulée par quelques gouttes d'HCl. On chauffe pour faciliter la dissolution et on transvase dans un vase de précipitation dont la capacité est de 50 centicubes. On répète deux à trois fois le lavage, on remet les eaux de lavage dans le vase de précipitation. Le volume final ne doit pas dépasser 15 à 20 centicubes. Comme les phosphates empêchent la précipitation du sodium sous la forme de sel de Streng, on les élimine de la manière suivante : on ajoute à la solution 20 à 25 gouttes de solution à 4 % de chlorure ferrique, et 1 à 2 gouttes d'eau de brome.

On chauffe au bain-marie (100°) une heure. Après refroidissement, on ajoute 1 goutte de phénolphtaléine et on alcalinise avec de l'ammoniaque concentré jusqu'à l'apparition d'une couleur rosée. On chauffe légèrement pour favoriser la formation du précipité et on filtre sur un papier sans cendres de 4 centimètres de diamètre.

Pour voir si les phosphates ont été complètement éloignés, on lave soigneusement le précipité avec de l'eau tridistillée qui contient quelques gouttes d'ammoniaque. On réduit le volume total par évaporation à 2 centicubes, et on acidifie légèrement avec de l'acide acétique, puis on ajoute goutte à goutte du réactif A, jusqu'à l'apparition d'une couleur verdâtre. On laisse passer environ quinze minutes.

Si le liquide contient encore des phosphates, il se trouble à la suite de la précipitation du phosphate d'urane. Dans ce cas, on ajoute un excès de réactif A et on recueille le précipité de phosphate d'urane sur un filtre pareil au premier. On lave avec de l'eau tridistillée qui contient quelques gouttes de réactif A.

Après l'élimination des phosphates, on réduit le volume du filtrat et des eaux de lavage à 2 centicubes par évaporation sur bain-marie. On laisse refroidir et on ajoute 20 centicubes du mélange précipitant (parties égales de A et B). On frotte les parois du verre avec une baguette pour faciliter la formation du précipité, on attend une demi-heure en agitant souvent pour empêcher la formation de grands cristaux (l'apparition de flocons prouve que la précipitation n'a pas été bien faite). On décante le liquide sur un filtre de Gooch taré et imbibé avec le réactif de précipitation. On filtre à la trompe de vide avec une vitesse d'une goutte toutes les cinq secondes.

On lave le précipité par sédimentation et décantation successives trois fois avec de l'alcool à 95° (10 centicubes d'alcool à chacun des lavages).

Enfin, on rassemble à l'aide d'un jet fin d'alcool tout le précipité sur le filtre Gooch. On le sèche à 105°, à poids constant, et l'on pèse. Le poids moléculaire de l'acétate de sodium, de magnésium et d'urane est égal à 1390, c'est-à-dire 60,43 fois plus grand que celui du sodium. Si l'on divise le poids P du précipité par 60.43, on trouve la quantité de sodium contenue dans l'échantillon analysé.

2° *Dosage du fer : méthode de Maquenne.* — Principe : formation du bleu de Prusse lorsque l'on ajoute du ferrocyanure

de K à une solution de sel ferrique. Sensibilité : 1/400 de milligramme de fer.

Pour éviter la formation du phosphate de fer insoluble que l'on observe souvent, lorsque l'on traite par les acides forts les cendres préparées par voie sèche, nous avons préféré minéraliser les microbes desséchés par la méthode de Grabar décrite précédemment.

Le résidu minéral est repris par un centicube d'acide sulfurique dilué à 1/10. On chauffe légèrement jusqu'à l'apparition de vapeurs blanches, on reprend par 3 gouttes d'acide chlorhydrique, on dilue avec 1 centicube d'eau, on transvase dans un tube de centrifugeuse de 5 à 6 centicubes. Le volume du liquide et des eaux de lavage ne doit pas dépasser 2 centicubes. S'il se forme du SO^4Ca en suspension, on centrifuge, on décante le liquide limpide surnageant, on lui ajoute quelques gouttes de phosphate de soude et un léger excès d'ammoniaque, afin d'obtenir un précipité permanent de phosphate de fer, de phosphate de chaux et de phosphate ammoniaco-magnésien et de traces de silicium. Si l'on ajoute 1 centicube d'acide acétique, tous les phosphates se redissolvent, excepté celui de fer. On centrifuge et l'on s'assure s'il ne reste plus de fer dans le liquide décanté.

Le précipité de phosphate ferrique est redissous dans 3 gouttes d'acide chlorhydrique ; on dilue avec 2 centicubes d'eau, on transvase avec les eaux de lavage dans un tube de 3 à 4 centicubes, dans lequel on a mis préalablement quelques gouttes de solution à 10 % de ferrocyanure de K fraîchement préparée. Il est préférable de procéder de la sorte que de mettre le ferrocyanure dans la solution ferrique, car la coloration bleue atteint plus vite son maximum d'intensité.

On compare la couleur obtenue avec celle d'une série de tubes étalons préparés préalablement à l'aide d'une solution d'alun de fer ammoniacal contenant 0,43 gramme dissous dans 1000 centicubes d'acide sulfurique à 2 % (100 centicubes de cette solution contiennent 5 milligrammes de fer). Une seule goutte ne contient que 0,0025 milligramme de fer, elle donne pourtant une coloration très nette avec le ferrocyanure de K.

Il est indispensable de s'assurer que le précipité de SO^4Ca ne contient pas de fer; pour cela il est repris, avec 3 gouttes d'acide, 2 centicubes d'eau et quelques gouttes de ferrocyanure de K. S'il apparaît une coloration bleue, on la compare à la gamme préalablement préparée et l'on ajoute la quantité de fer correspondante à celle déterminée antérieurement.

3° *Dosage du potassium : technique de Kramer-Tisdall.* — Principe : précipitation du potassium sous la forme insoluble de cobaltinitrite de potassium, 0,1 gramme de microbes desséchés sont soumis à la minéralisation par voie humide, procédé de Grabar. Le résidu minéral est repris par 1 centicube d'eau tri-distillée et mélangée avec 2 centicubes du réactif cobaltonitrique que l'on ajoute goutte à goutte.

Après quarante-cinq minutes de repos et l'addition de 2 centicubes d'eau tri-distillée, on sépare par une centrifugation de quinze minutes le précipité formé.

On décante le liquide surnageant, on lave 3 fois avec 5 centicubes d'eau tri-distillée en séparant chaque fois le précipité par centrifugation.

Après décantation des dernières eaux de lavage, on dissout le précipité dans 2 centicubes de permanganate de K n/58 et 1 centicube d'acide sulfurique 4N. On agite et on chauffe dans l'eau bouillante jusqu'à dissolution complète du précipité. On ajoute 2 à 3 centicubes d'oxalate de sodium n/100 et l'on titre l'excès d'oxalate avec du permanganate n/50. En multipliant le nombre de centicubes de permanganate employés avec 2, en déduisant ensuite le nombre de centicubes d'oxalate, et enfin en multipliant par 0,71, on obtient la quantité de K exprimée en milligrammes contenue dans 100 grammes de microbes desséchés.

4° *Dosage du calcium : technique de J. de Waard.* — Principe : précipitation du calcium sous sa forme insoluble d'oxalate de Ca : titration de l'acide oxalique libéré par le permanganate.

Malgré les nombreuses critiques subies par ce procédé, de nombreux essais préliminaires, ainsi que tous nos dosages ultérieurs, nous ont donné d'excellents résultats.

0,1 à 0,3 gramme de microbes desséchés sont minéralisés par voie humide. Le résidu minéral est repris par 1 à 2 centicubes d'eau distillée et transvasé dans un tube de centrifugeuse. On chauffe dans l'eau bouillante, on ajoute 0,5 centicube de solution saturée d'oxalate d'ammoniaque, une goutte de rouge de méthyle et de l'ammoniaque concentré jusqu'à coloration jaune. On réacidifie avec de l'acide acétique concentré, jusqu'à apparition d'une couleur rose pâle. On laisse le précipité pendant vingt-quatre heures. Les phosphates, le Mg et le fer qui pourraient être présents dans la solution ne précipitent pas, dans ces conditions. Le phosphate de calcium est soluble dans l'acide acétique, l'oxalate

de magnésium est soluble en présence des sels d'ammonium, enfin l'oxalate et le phosphate de fer sont solubles en présence de l'oxalate d'ammonium et de l'acide acétique.

On centrifuge, on décante et on lave deux fois avec 2 centicubes d'eau tri-distillée contenant quelques gouttes d'ammoniaque. (Le liquide décanté et les eaux de lavage sont conservés soigneusement pour le dosage ultérieur du Mg.)

Le précipité d'oxalate de calcium est dissous dans 0,3 centicube de solution d'acide nitrique dilué à moitié. On chauffe sur bain d'eau à 50°-60°, jusqu'à dissolution complète.

On ajoute à chaud du permanganate de K n/100, jusqu'à l'apparition d'une couleur rose violacé *persistante.*

Un centicube de solution centinormale de permanganate de potassium correspond à 0,2 milligramme de calcium (1 centicube de permanganate n/100 peut oxyder 0,6305 milligramme d'acide oxalique, auxquels correspondent 0,64 milligramme d'oxalate de calcium ou 0,2 milligramme de calcium).

5° *Dosage du magnésium : technique de Canals.* — Principe : précipitation du Mg comme phosphate ammoniaco-magnésien (PO^4MgNH^4). Le précipité est redissous dans l'acide chlorhydrique et l'anhydride phosphorique (P^2O^5) formée titrée avec une solution d'azotate d'urane. Sensibilité, 0,2 milligramme de Mg.

Le filtrat et les eaux de lavage restés après la séparation du calcium à l'état d'oxalate sont acidulés avec 5 gouttes d'acide chlorhydrique, et leur volume réduit par évaporation sur bain-marie à 2 centicubes. On ajoute 5 centicubes d'une solution de chlorure d'ammoniaque à 1/10, on alcalinise avec de l'NH^3 jusqu'à réaction alcaline (tournesol). Après l'addition de 5 centicubes d'une solution de phosphate dissodique à 1/15, on agite quelques secondes et on laisse en repos à la glacière pendant douze heures. Si le phosphate ammoniaco-magnésien précipite sous forme de grands cristaux adhérents aux parois du verre, on les rassemble par centrifugation, on les dissout dans l'acide chlorhydrique 5 % et on les reprécipite par alcalinisation.

Le précipité de phosphate ammoniaco-magnésien est lavé avec de l'eau ammoniacale à 1/10, dissous dans une quantité minime d'acide chlorhydrique 5 % (5 gouttes pour un milligramme de précipité) et décanté dans un verre Pyrex ou une capsule de porcelaine. On lave le tube qui a servi à la précipitation avec 10 à 15 gouttes d'eau tridistillée que l'on ajoute à la solution chlorhy-

drique de phosphate ammoniaco-magnésien. Après addition de 5 gouttes de teinture de cochenille et 5 gouttes d'une solution d'acétate-acétique à 1/10, on chauffe et l'on ajoute goutte à goutte une solution de nitrate d'urane (3,55 grammes %), jusqu'à l'apparition d'une couleur vert sale persistante. Un centicube de la solution d'urane correspond à 0,5 milligramme de P^2O^5 ou à 0,171 de milligramme de Mg.

6° *Dosage du phosphore : technique de Javillier.* — Principe : précipitation du phosphore comme phospho-molibdate d'ammonium; transformation du molybdène contenu dans le complexe en suboxyde de molybdène; enfin oxydation de ce dernier par le permanganate de K.

Minéralisation des microbes desséchés par voie humide, comme pour tous les autres éléments.

Le résidu minéral est repris à chaud par 5 centicubes d'eau tridistillée acidulée avec un centicube d'acide sulfurique concentré. On chauffe à l'ébullition. On ajoute 3 centicubes de solution saturée de sulfate d'ammonium et 5 centicubes d'eau tridistillée. On chauffe quinze minutes sur bain d'eau, on ajoute 5 centicubes d'une solution à 5 % de molybdate d'ammonium, on continue à chauffer pendant dix minutes en agitant de temps en temps pendant les dernières cinq minutes; on laisse refroidir. Le précipité de phosphate ammoniaco-magnésien étant assez lourd se dépose facilement sur le fond du vase. Après refroidissement complet, décanter le liquide surnageant sur un filtre d'amiante (pareil à celui employé dans la méthode de Bertrand pour le dosage des sucres réducteurs) placé sur une fiole conique pour le vide. Laver le précipité trois fois avec 10 centicubes d'alcool à 50°, trois fois avec 5 centicubes d'alcool, et enfin quatre fois avec 5 centicubes d'eau distillée. Pendant les premiers lavages, on laisse le précipité se déposer sur le fond du vase à précipitation; à la fin, on l'entraîne avec soin sur le filtre d'amiante. On transporte le filtre et le précipité dans 10 centicubes d'ammoniaque 1/3, et on lave soigneusement le filtre avec de l'eau tridistillée. On ajoute à la solution (50 centicubes environ) 5 centicubes d'acide sulfurique et l'on projette, à l'intérieur de la fiole, 0,10 gramme d'aluminium en poudre exactement pesé. On surmonte la fiole avec un réfrigérent ascendant et on chauffe à ébullition.

Après une heure et demie, lorsque l'aluminium a complètement disparu, on ajoute immédiatement du permanganate de K n/25, d'abord de plus grandes quantités jusqu'à disparition de la coloration brune, puis goutte à goutte jusqu'à l'apparition

d'une couleur rose violacé persistante. On dose à l'avance la quantité de fer contenue dans l'aluminium et l'on déduit du nombre de centicubes de permanganate employés ceux qui sont nécessaires pour oxyder le fer.

Le volume de permanganate, corrigé de la sorte, multiplié par 0,3584, donne en milligrammes la quantité de phosphore contenu dans l'échantillon analysé.

Résultats de nos recherches exprimés en tableaux et graphiques

Dans la première série de recherches faites au cours des mois d'avril, mai et juin, le milieu a été renouvelé quatre fois. L'analyse des cendres nous a donné les résultats suivants :

	Na °/₀	K °/₀	Ca °/₀	Mg °/₀	Fe °/₀	P °/₀
Milieu A	5,85	0,43	0,066	0,23	0,04	1
Milieu B	6,20	0,45	0,066	0,26	0,04	1,10
Milieu C	6,05	0,46	—	0,22	0,0325	1,10
Milieu D	5,90	0,44	0,06	0,26	0,045	1
Valeurs moyennes du :						
Milieu I	6	0,445	0,066	0,25	0,0395	1,05

La deuxième série de recherches a été faite au mois de décembre, sur un milieu préparé dans les mêmes conditions que le premier. Pourtant, l'analyse des cendres nous a donné des chiffres assez différents :

	Na °/₀	K °/₀	Ca °/₀	Mg °/₀	Fe °/₀	P °/₀
Milieu I (valeurs moyennes, avril, mai, juin 1931).	6	0,445	0,066	0,25	0,039	1,05
Milieu II (décembre 1931).	5,40	0,69	0,025	0,13	traces	0,87

Nous supposons que ces variations peuvent être attribuées à l'alimentation différente des animaux dont provenait la viande pendant l'hiver ou pendant l'été.

L'analyse des cendres du milieu de culture ayant servi à une récolte, nous a donné des chiffres qui prouvent qu'en général, lorsque l'espèce microbienne a une affinité spéciale pour un élément, on observe une baisse du taux de cet élément dans le milieu.

TABLEAU I

Espèces microbiennes étudiées	Teneur en *Potassium* (exprimée en grammes) pour 100 grammes de			Teneur en *Sodium* (exprimée en gramm pour 100 grammes d		
	MICROBES	*milieu* AVANT *la récolte*	*milieu* APRÈS *la récolte*	MICROBES	*milieu* AVANT *la récolte*	*m* A *la r*
Stafilococus citreus	0,69	0,45	0,20	0,89	6	5
Stafilococus aureus	0,64	0,45	0,145	0,27	6	5
Stafilococus albus	0,62	0,45	0,141	0,41	6	5
Bacterium coli	0,035	0,45	0,40	0,83	6	5
Vibrio cholerae	0,042	0,45	0,37	0,76	6	5
Bacterium typhi	0,22	0,45	0,39	0,92	6	5
Bacterium paratyphi A	0,028	0,45	0,41	0,56	6	5
Bacterium paratyphi B.	0,12	0,45	0,27	1,14	6	5

En cultivant le vibrion Pasteur var. « smooth » sur les milieux I et II, dont les cendres étaient différentes, nous avons pu constater des variations correspondantes dans la composition des cendres bactériennes.

TABLEAU II

Vibrion cholérique (Pasteur) var. « smooth »	Teneur en *Cendres* %	Teneur en *Potassium* (exprimée en grammes) pour 100 grammes de		Teneur en *Sodi* (exprimée en gram pour 100 gramme	
		MILIEU	MICROBES	MILIEU	MICR
Cultivé sur milieu I	6,02	0,445	0 042	6	0,
Cultivé sur milieu II	5,10	0,69	0,048	5,40	0,

Cette constatation nous a obligé de grouper nos résultats dans deux tableaux. Le premier contient les chiffres obtenus pour la composition des cendres des bactéries cultivées sur le milieu I, le deuxième contient les chiffres obtenus pour la composition des cendres des bactéries cultivées sur le milieu II.

Observations

L'examen de ces tableaux et graphiques nous permet de faire une série d'observations intéressantes :

Cendres. — Le groupe des staphylocoques est caractérisé par une grande richesse en cendres (11 — 11,5 grammes %), compa-

eneur en *Calcium* rimée en grammes) r *100 grammes de*			Teneur en *Magnésium* (exprimée en grammes) *pour 100 grammes de*			Teneur en *Fer* (exprimée en grammes) *pour 100 grammes de*			Teneur en *Phosphore* (exprimée en grammes) *pour 100 grammes de*		
ES	*milieu* AVANT *la récolte*	*milieu* APRÈS *la récolte*	MICROBES	*milieu* AVANT *la récolte*	*milieu* APRÈS *la récolte*	MICROBES	*milieu* AVANT *la récolte*	*milieu* APRÈS *la récolte*	MICROBES	*milieu* AVANT *la récolte*	*milieu* APRÈS *la récolte*
2	0,066	0,049	0,14	0,25	0,20	0,008	0,04	0,0375	1,47	1	0,43
	0,066	0,045	0,13	0,25	0,16	0,0105	0,04	0,035	1,30	1	0,46
	0,066	0,040	0,20	0,25	0,15	0,0075	0,04	0,0375	1,68	1	0,40
	0,066	0,041	0,20	0,25	0,18	0,0175	0,04	0,035	1,52	1	0,74
	0,066	0,055	0,09	0,25	0,22	0,008	0,04	0,0385	1,48	1	0,78
	0,066	0,051	0,27	0,25	0,15	0,0075	0,04	0,0385	1,52	1	0,58
	0,066	0,050	0,21	0,25	0,19	0,025	0,04	0,035	1,50	1	0,72
	0,066	0,060	0,18	0,25	0,19	0,0125	0,04	0,0385	1,54	1	0,83

rativement aux autres espèces microbiennes étudiées (6 à 8 grammes %). Le charbon seul, avec ses deux races Rough et Smooth, bien que cultivé sur un milieu plus pauvre en cendres, donne un résidu minéral plus riche que celui des staphylocoques

ur en *Calcium* mée en grammes) *100 grammes de*		Teneur en *Magnésium* (exprimée en grammes) *pour 100 grammes de*		Teneur en *Fer* (exprimée en grammes) *pour 100 grammes de*		Teneur en *Phosphore* (exprimée en grammes) *pour 100 grammes de*	
EU	MICROBI S	MILIEU	MICROBES	MILIEU	MICROBES	MILIEU	MICROBES
66	0,13	0,245	0,09	0,039	0,08	1	1,48
25	0,076	0,13	0,15	Traces	0,003	0,87	1,21

(12 à 14 grammes %). Les vaccins I et II ont par contre la moitié du taux des cendres de la forme de laquelle ils dérivent. Fait paradoxal, la forme la plus atténuée, le vaccin I, a plus de cendres, 7,17 %, que le vaccin II, 5,23 %.

Le vibrion cholérique Rough est deux fois plus riche en cendres, 11,61 %, que le vibrion cholérique Smooth, 5,10 %; cette différence persiste aussi entre les deux formes d'Aertrycke, mais beaucoup moins évidente (Rough, 6,84 grammes %; Smooth, 6,23 grammes %).

Potassium. — Parmi les constituants des cendres microbiennes, c'est le K qui attire spécialement notre attention. Les quantités de potassium contenues dans le milieu semblent ne pas influencer l'affinité des bactéries pour cet élément, car le vibrion cholérique contient 0,048 gramme de K % lorsqu'il est cultivé sur le

TABLEAU III

CULTURES SUR MILIEU I

Espèces microbiennes étudiées	Teneur en CENDRES pour 100 gr. de MICROBES DESSÉCHÉS	Teneur en *Potassium* (exprimée en grammes) *pour 100 grammes de*			Teneur en *Sodium* (exprimée en gramme *pour 100 grammes de*		
		MILIEU	MICROBES	CENDRES	MILIEU	MICROBES	CEND
Stafilococus citreus	11,51	0,445	0,69	5,99	6	0,89	7,7
Stafilococus aureus	10,99	0,445	0,64	5,82	6	0,27	2,4
Stafilococus albus	11,20	0,445	0,62	6,08	6	0,41	4,0
Micrococus Catarhalis	6,69	0,445	0,035	0,52	6	0,27	4,0
Bacterium Coli	6,43	0,445	0,035	0,54	6	0,83	12,9
Vibrio choleræ Pasteur	6,02	0,445	0,042	0,697	6	0,76	12,6
Bacterium typhi	6,36	0,445	0,22	3,45	6	0,92	14,4
Bacterium paratyphi A	5,46	0,445	0,028	0,512	6	0,56	10,3
Bacterium paratyphi B	7,15	0,445	0,12	1,67	6	1,14	15,9
Bacillus dysenteriæ Shiga	8,34	0,445	0,36	4,28	6	1,18	14,0
Bacillus dysenteriæ Flexner	7,32	0,445	0,11	1,50	6	0,73	10,3
Bacillus dysenteriæ Y	7,19	0,445	0,088	1,22	6	0,79	10,9
Bacille Suipestifer	6,96	0,445	0,031	0,44	6	0,71	10,0
Bacillus enteridis Gärtner	7,74	0,445	0,042	0,54	6	0,88	11,3
Bacille Aertrycke Rough	6,84	0,445	0,065	0,95	6	0,79	11,3
Bacille Aertrycke Smooth	6,23	0,445	0,022	0,35	6	0,74	11,8
Bacillus tume faciens	7,03	0,445	0,34	4,83	6	0,53	7,5

TABLEAU IV

CULTURES SUR MILIEU II

Espèces microbiennes étudiées	Teneur en CENDRES pour 100 gr. de MICROBES DESSÉCHÉS	Teneur en *Potassium* (exprimée en grammes) *pour 100 grammes de*			Teneur en *Sodium* (exprimée en gramme *pour 100 grammes de*		
		MILIEU	MICROBES	CENDRES	MILIEU	MICROBES	CEND
Bacillus anthracis Rough	13,57	0,69	0,64	4,71	5,40	0,86	6,3
Bacillus anthracis Smooth	12,70	0,69	0,28	2,20	5,40	0,82	6,4
Bacillus anthracis vaccin I	7,17	0,69	0,10	1,39	5,40	0,79	11,0
Bacillus anthracis vaccin II	5,23	0,69	0,06	1,14	5,40	0,75	14
Vibrion non agglutinable 20	4,96	0,69	0,11	2,21	5,40	0,69	13,9
Vibrion non agglutinable 20 b	8,61	0,69	0,14	1,62	5,40	0,75	8,7
Vibrion non agglutinable 23	4,73	0,69	0,12	2,53	5,40	0,82	17,3
Vibrio choleræ 658	7,98	0,69	0,14	1,75	5,40	0,79	9,8
Vibrio choleræ Pasteur Rough	11,61	0,69	0,076	0,65	5,40	0,76	6,5
Vibrio choleræ Pasteur Smooth	5,10	0,69	0,048	0,941	5,40	0,76	14,9

milieu II, riche en K (0,69 gramme %), et 0,042 gramme % lorsqu'il est cultivé sur le milieu I, plus pauvre en K (0,445 grammes %).

Le groupe des staphylocoques est très riche en K; il contient 0,62 à 0,69 gramme %, une quantité 20 fois plus grande que la majorité des bactéries étudiées (0,022 à 0,015 gramme).

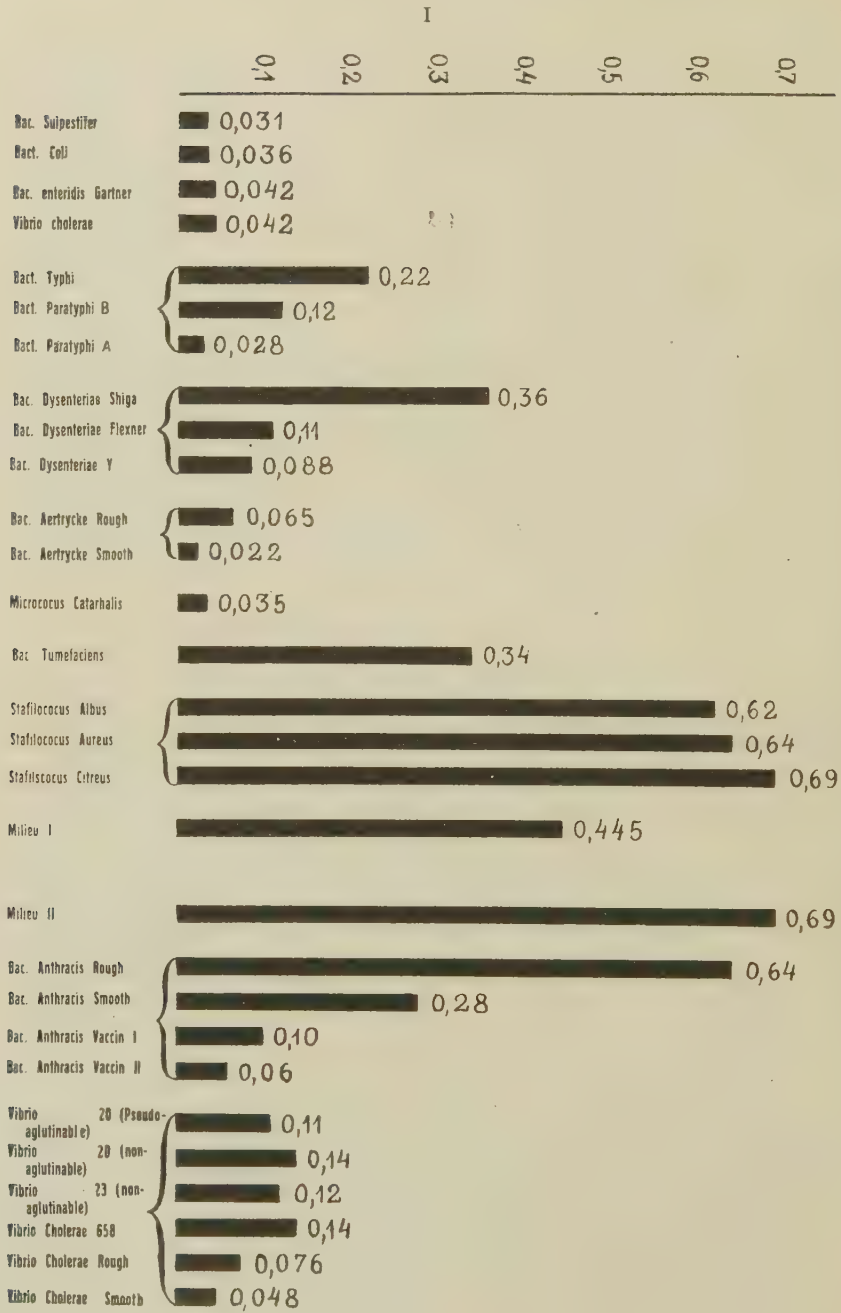
Le charbon, et surtout la forme Rough, est le seul parmi les

Teneur en *Calcium* (exprimée en grammes) pour 100 grammes de			Teneur en *Magnésium* (exprimée en grammes) pour 100 grammes de			Teneur en *Fer* (exprimée en grammes) pour 100 grammes de			Teneur en *Phosphore* (exprimée en grammes) pour 100 grammes de		
EU	MICROBES	CENDRES	MILIEU	MICROBES	CENDRES	MILIEU	MICROBES	CENDRES	MILIEU	MICROBES	CENDRES
66	0,082	0,712	0,245	0,14	1,21	0,039	0,008	0,069	1,05	1,47	12,76
66	0,11	1	0,245	0,13	1,18	0,039	0,0105	0,095	1,05	1,30	11,82
66	0,13	1,33	0,245	0,20	1,96	0,039	0,0075	0,073	1,05	1,68	16,59
66	0,18	2,69	0,245	0,19	1,92	0,039	0,012	0,17	1,05	1,55	23,16
66	0,16	1,48	0,245	0,20	3,11	0,039	0,0175	0,27	1,05	1,52	23,63
66	0,13	2,19	0,245	0,09	1,61	0,039	0,008	0,13	1,05	1,48	24,58
66	0,14	1,20	0,245	0,27	4,25	0,039	0,0075	0,11	1,05	1,52	23,89
66	0,23	4,21	0,245	0,21	3,84	0,039	0,025	0,45	1,05	1,50	27,47
66	0,19	2,65	0,245	0,18	2,51	0,039	0,0125	0,17	1,05	1,54	21,53
66	0,19	2,25	0,245	0,19	2,33	0,039	0,00875	0,10	1,05	1,88	22,35
66	0,17	2,32	0,245	0,24	3,27	0,039	0,0175	0,23	1,05	1,89	25,81
66	0,094	1,30	0,245	0,21	3,05	0,039	0,01125	0,15	1,05	2	27,81
66	0,31	4,45	0,245	0,19	2,72	0,039	0,0125	0,17	1,05	0,99	13,22
66	0,29	3,74	0,245	0,15	1,93	0,039	0,015	0,19	1,05	1,28	16,53
66	0,19	2,77	0,245	0,35	5,11	0,039	0,01	0,14	1,05	1,82	26,60
66	0,184	2,88	0,245	0,12	2,84	0,039	0,005	0,08	1,05	1,65	26,48
66	0,17	2,41	0,245	0,17	2,41	0,039	0,0062	0,088	1,05	1,67	23,75

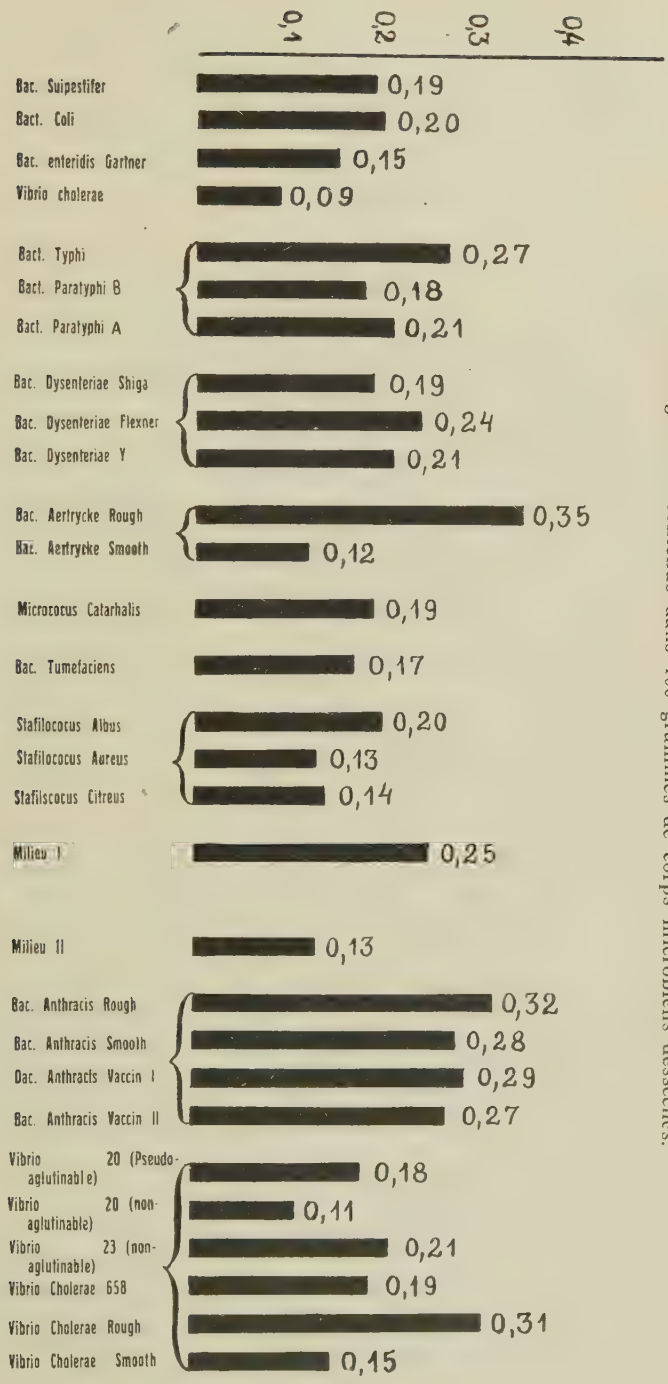
Teneur en *Calcium* (exprimée en grammes) pour 100 grammes de			Teneur en *Magnésium* (exprimée en grammes) pour 100 grammes de			Teneur en *Fer* (exprimée en grammes) pour 100 grammes de			Teneur en *Phosphore* (exprimée en grammes) pour 100 grammes de		
EU	MICROBES	CENDRES	MILIEU	MICROBES	CENDRES	MILIEU	MICROBES	CENDRES	MILIEU	MICROBES	CENDRES
5	0,10	0,76	0,13	0,32	2,35	races	0,0066	0,048	0,87	1,52	11,20
5	0,03	0,25	0,13	0,28	2,24	—	0,0066	0,051	0,87	1,38	10,86
5	0,21	2,97	0,13	0,29	4,04	—	0,003 3	0,045	0,87	1,53	21,33
5	0,057	1,08	0,13	0,27	5,16	—	0,003	0,063	0,87	1,24	23,70
5	0,068	1,37	0,13	0,18	2,82	—	0,0066	0,13	0,87	1,22	24,59
5	0,057	0,66	0,13	0,11	1,27	—	0,0058	0,067	0,87	1,25	14,51
5	0,074	1,56	0,13	0,21	4,43	—	0,006	0,12	0,87	1,21	25,58
0	0,049	0,61	0,13	0,19	2,38	—	0,003	0,037	0,87	1,64	9,89
0	0,094	0,80	0,13	0,31	2,67	—	0,008	0,068	0,87	1,21	10,42
5	0,076	1,49	0,13	0,15	2,94	—	0,003	0,055	0,87	1,21	23,72

autres microbes dont la richesse en K soit pareille à celle des staphylocoques (0,64 gramme %). La forme Smooth, bien que plus riche que les autres espèces microbiennes, n'a que 0,28 gramme de K %, donc 3 fois moins que la forme Rough.

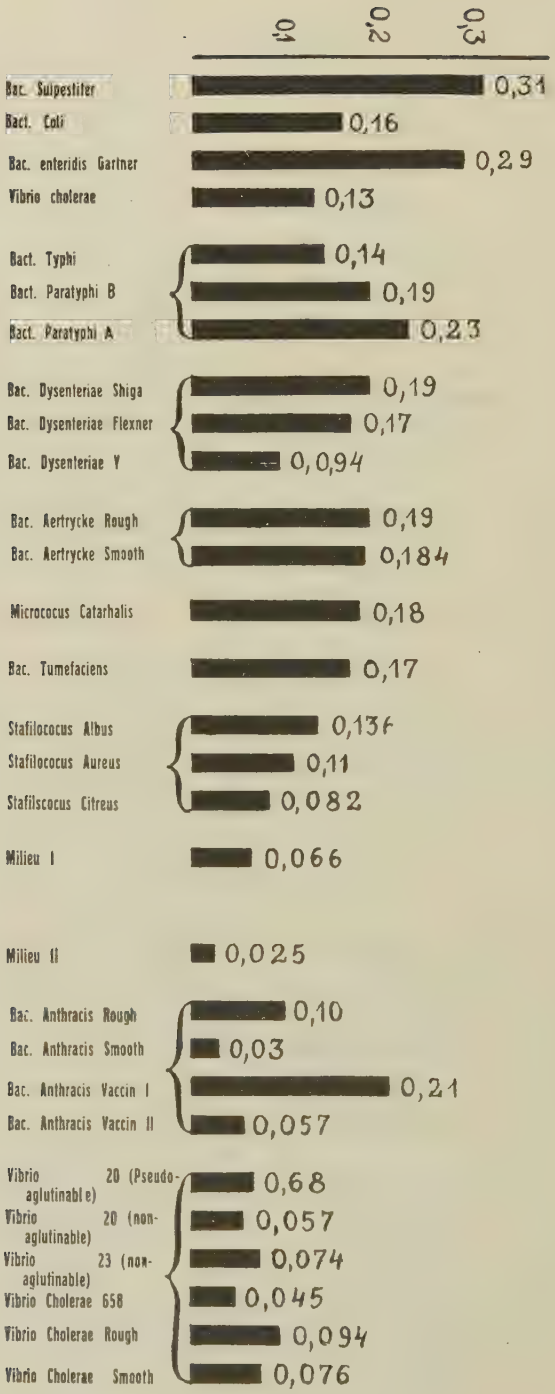
Dans les graphiques suivants nous résumons les résultats de nos recherches.



Grammes de Potassium contenus dans 100 grammes de corps microbiens desséchés.



Grammes de Magnésium contenus dans 100 grammes de corps microbiens desséchés.

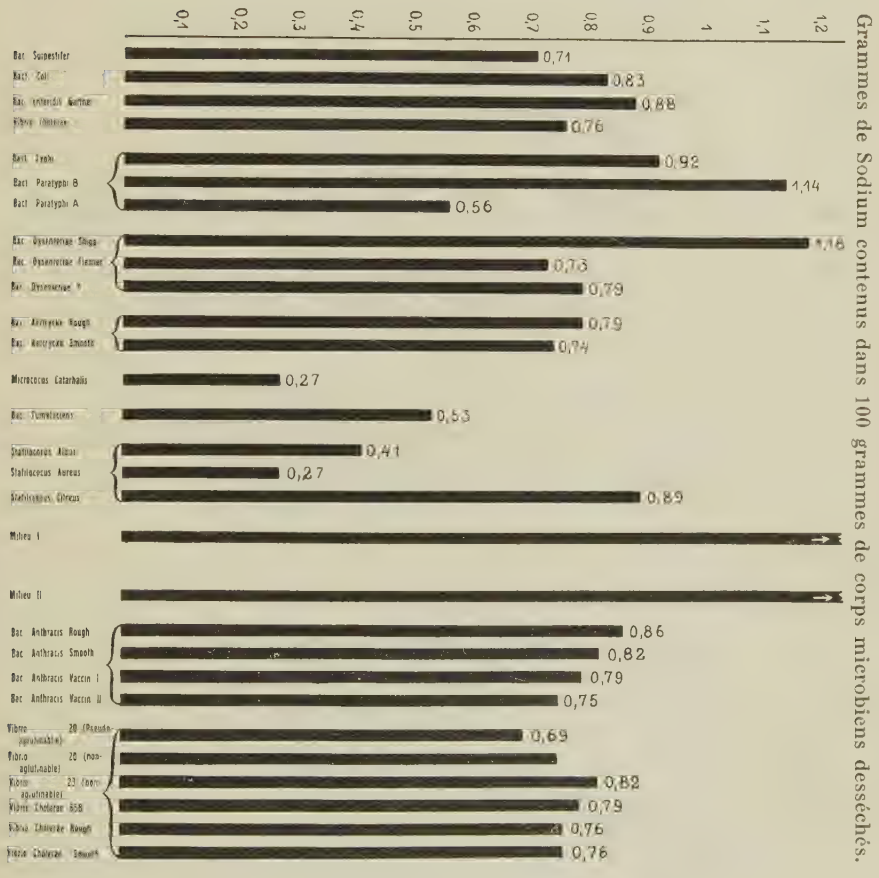


Grammes de Calcium contenus dans 100 grammes de corps microbiens desséchés.

Les formes atténuées, vaccin I et II, sont beaucoup plus pauvres en K (0,1 et 0,06 gramme %).

Dans le groupe des dysentériques, Shiga est 3 fois plus riche

IV

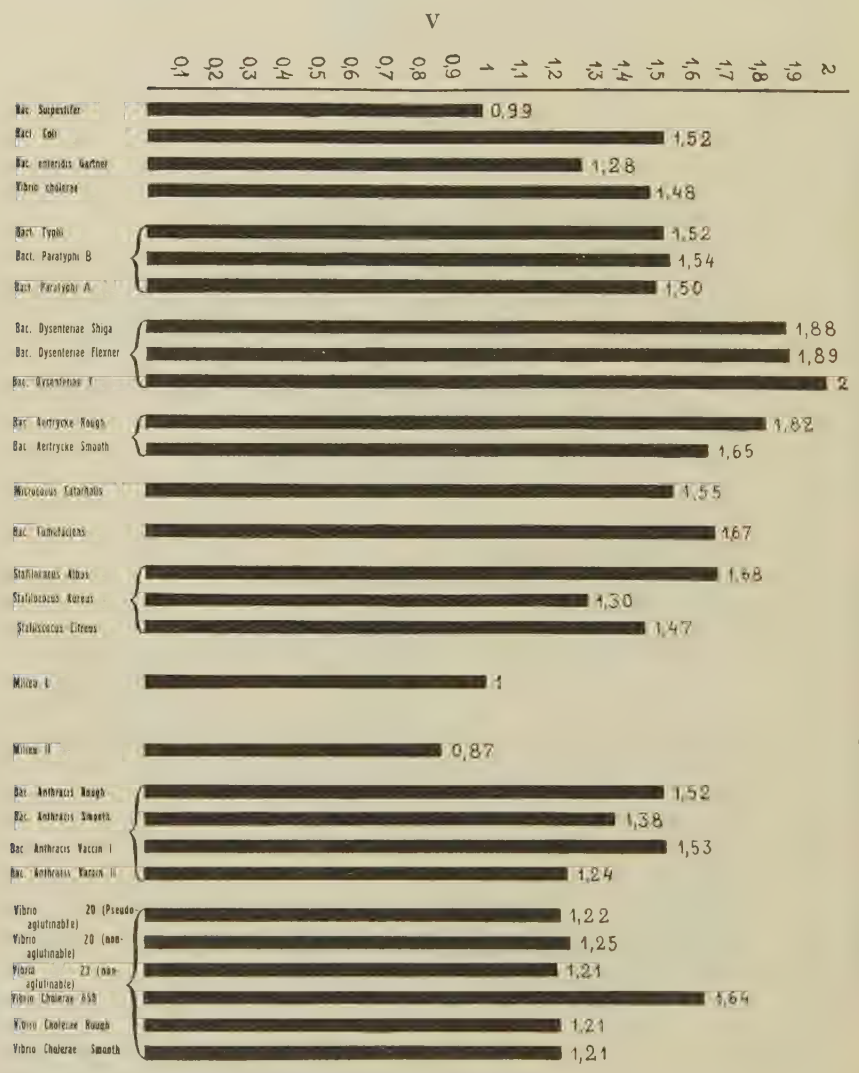


Grammes de Sodium contenus dans 100 grammes de corps microbiens desséchés.

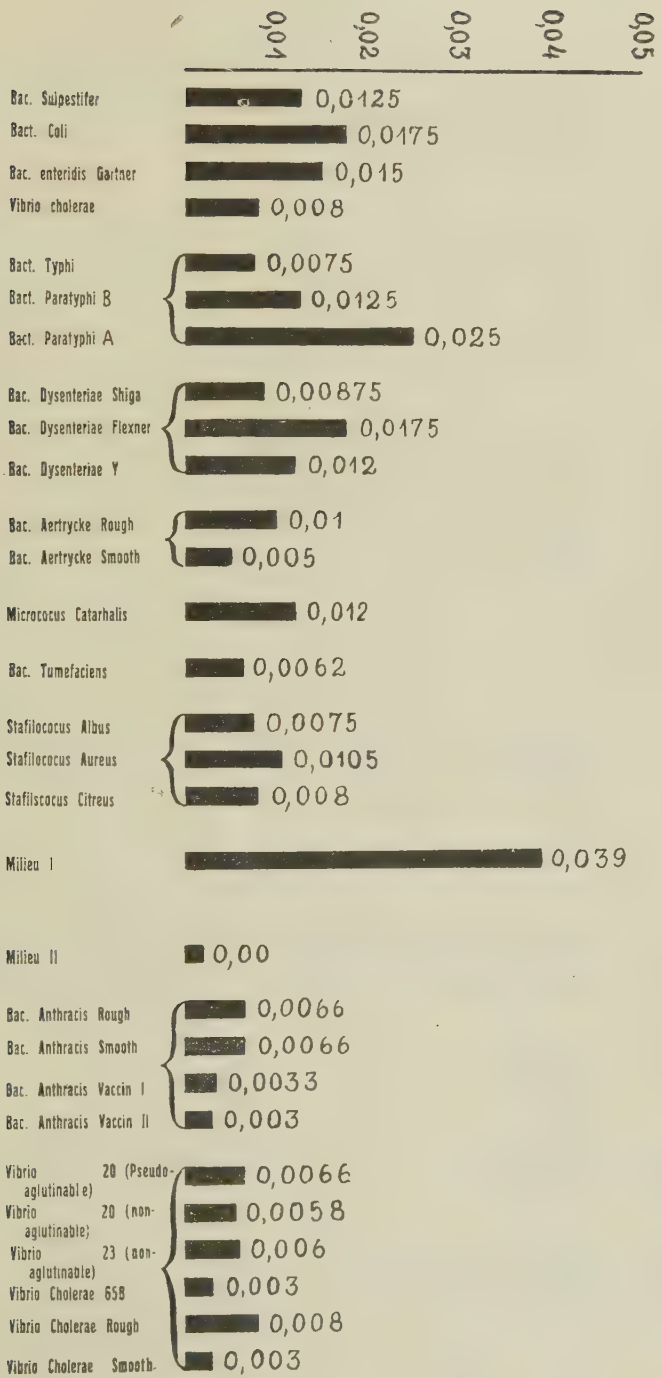
(0,34 gramme %) que Flexner (0,11 gramme %) et 4 fois plus riche qu'Y (0,088 gramme %).

On remarque les mêmes différences dans le groupe des typhiques-paratyphiques. Le bacille typhique contient 0,22 gramme

de K %; le para B, la moitié (0,12 gramme %), et enfin le para A, 8 fois moins (0,028 gramme %).



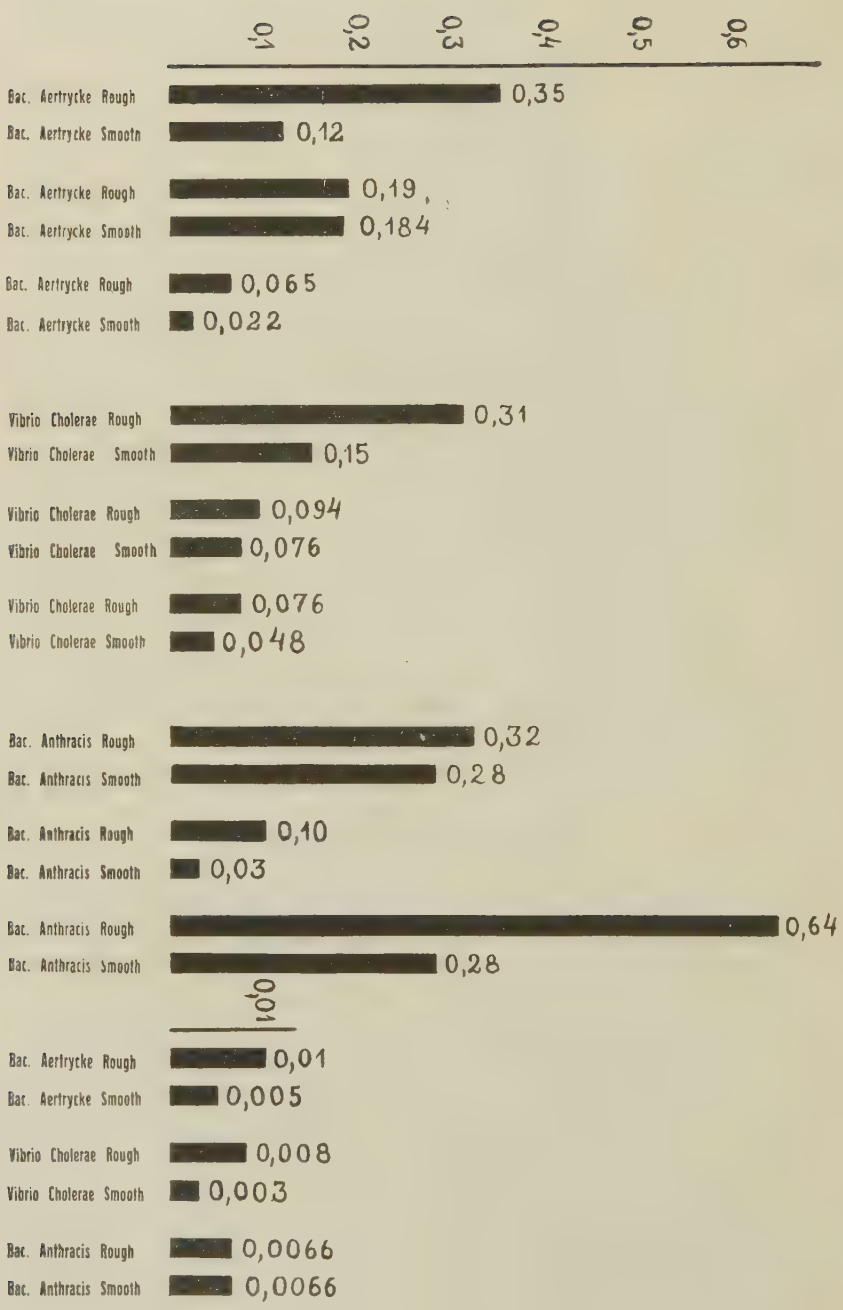
Parmi les autres bactéries analysées, c'est le bacillus tumefaciens qui est le plus riche en K (0,34 gramme %), après le groupe des staphylocoques.



Grammes de Fer contenus dans 100 grammes de corps microbiens desséchés.

Grammes de Potassium, de Calcium, de Magnésium et de Fer contenus dans 100 grammes de corps microbiens desséchés.

Formes Rough et Smooth.



Il résulterait de ces constatations que la quantité de K pour chaque espèce ou type microbien représente une valeur plus ou moins constante et indépendante de la concentration du milieu en cet élément.

Le *calcium*. — La richesse du milieu en calcium paraît, à l'encontre du K, influencer le contenu des cendres du vibrion cholérique dans leur richesse en cet élément. La récolte obtenue sur le milieu I avec 0,066 gramme de Ca %, contient 0,13 gramme de calcium %, tandis que celle obtenue sur le milieu II, avec 0.025 de Ca %, ne contient plus que 0,076 gramme de Ca %.

Dans les deux cas, la cellule microbienne accumule le Ca dans un pourcentage plus élevé qu'il n'en existe dans le milieu de culture, mais le résultat comparatif est en rapport direct avec la richesse relative du milieu utilisé.

Les différences observées entre les formes Rough et Smooth d'une même espèce microbienne sont également intéressantes. La bactéridie charbonneuse variante Rough a 0,1 gramme de Ca %, tandis que la variante Smooth n'a que 0,03 gramme de Ca %. On observe des différences dans le même sens, mais moins accentuées pour les formes R et S du vibrion cholérique (R : 0,096 gramme %, et S : 0,076 gramme %), tandis que les formes R et S du bacille d'Aertrycke sont parfaitement comparables quant à leur teneur en calcium.

Nous avons signalé la diminution du K dans les formes atténuées de la bactéridie charbonneuse, vaccin I et II. Pour le calcium, le phénomène est inverse, c'est-à-dire que c'est la forme la plus atténuée qui est la plus riche en calcium (0,21 gramme %) ; le vaccin II a 0,057 gramme %, et la forme virulente Smooth n'a que 0,03 gramme de calcium %.

On constate donc un antagonisme assez net, pour ces deux éléments, quand il s'agit des variations des propriétés biologiques chez certaines espèces microbiennes.

Dans le groupe des staphylocoques, le blanc contient 0,13 gramme de Ca %, les formes pigmentées sont relativement plus pauvres (0,11 et 0,082 gramme de Ca %).

Cette observation nous a rappelé les expériences de Bordet qui a obtenu des races de micrococcus prodigiosus *très peu pigmentées* sur les milieux riches en Ca.

Magnésium. — Si nous examinons les tableaux I et II, nous observons que les formes R et S du bacille Aertrycke contiennent des quantités égales de calcium; Aertrycke R, par contre, est

3 fois plus riche en Mg (0,31 %) qu'Aertrycke S (0,12 gramme %). Le vibrion cholérique R est 2 fois plus riche en Mg (0,3 gramme %) que le vibrion S, enfin il n'y a presque pas de différence entre le contenu en Mg des formes R et S de la bactéridie charbonneuse (0,32 et 0,28 gramme %).

Il semble que la forme R des trois espèces microbiennes étudiées a toujours un excès de Ca ou de Mg par rapport à la forme S. Lorsqu'elles ne diffèrent pas par leur contenu en Ca, la variante R a 3 fois plus de Mg que celle de Smooth. Lorsque c'est le taux de Mg qui est le même, R a 3 fois plus de calcium que Smooth.

Voici un tableau résumant ces données :

	Aertrycke		Vibrion cholérique		Bac. Anthracis	
	R	S	R	S	R	S
Gramme de Mg %	0,35	0,12	0,31	0,15	0,32	0,28
Gramme de Ca %	0,19	0,184	0,044	0,076	0,10	0,03

Fer. — Les cendres des milieux I et II sont pauvres en fer. Milieu I : 0,0395 gramme %; milieu II : traces indosables.

La richesse relative du milieu I en fer pourrait expliquer pourquoi les bactéries étudiées dans la première série de recherches sont en général plus riches en fer (jusqu'à 25 milligrammes %) que celles cultivées sur le milieu II (maximum, 8 milligrammes %). D'ailleurs, le vibrion cholérique S a 8 milligrammes de fer % lorsqu'il a été cultivé sur le milieu I, et 3 milligrammes de fer % lorsqu'il a été cultivé sur le milieu II.

Les formes R du bacille Aertrycke et du vibrion cholérique sont plus riches en fer (0,01 gramme et 0,008 gramme %) que les formes S (0,005 gramme % et 0,0038 %). On n'observe pas cette différence entre les formes R et S de la bactéridie charbonneuse.

Dans le groupe des typhiques, le para A contient 25 milligrammes de fer %, tandis que para B contient la moitié, 12,5 milligrammes %, et le bacille typhique seulement 7,5 milligrammes %.

Enfin, les formes spécifiquement non-agglutinables de vibrions sont plus riches en fer, 5,8 à 6 milligrammes % que les cholériques vrais (3 milligrammes %).

Le vibrion Pasteur est aussi riche en fer que les vibrions non-agglutinables.

Phosphore. — Comme pour la majorité des éléments étudiés, l'appauvrissement du milieu en phosphore a pour conséquence

la baisse du taux de cet élément dans les cendres microbiennes. Le vibrion Pasteur S, cultivé sur le milieu I avec 1,05 gramme de P %, contient 1,48 gramme de P %, tandis que celui cultivé sur le milieu II, avec 0,87 gramme de P %, n'a que 1,21 gramme de P %.

En général, l'affinité de toutes les bactéries pour le phosphore est très grande. Nous n'avons pas observé des différences qui nécessitent d'être spécialement signalées.

Dans le groupe des staphylocoques, le blanc est plus riche en phosphore (1,68 gr. %) que le citreus (1,478 %), et encore plus riche que l'aureus (1,30 gramme %).

C'est le groupe des dysentériques qui est le plus riche en phosphore. Y contient 2 grammes de P % ; Flexner, 1,89 gramme %, et Shiga, 1,88 gramme %.

Parmi les vibrions qui contiennent en général 1,21 à 1,25 grammes de P %, seule la race spécifiquement agglutinable, cataloguée dans la collection de notre Institut sous le n° 658, a 1,64 gramme de P %. Les formes R du bacille d'Aertrycke et de la bactéridie charbonneuse sont plus riches en P (1,82 et 1,52 gramme %) que les formes S (1,65 et 1,38 gramme). On n'observe pas les mêmes différences pour les formes R et S du vibrion cholérique Pasteur.

Sodium. — Dans le groupe des staphylocoques, le plus pauvre en sodium est le staphylocoque aureus qui contient 0,27 %, le citreus contient 0,89 gramme % et le blanc 0,41 gramme %.

Dans le groupe des typhiques-paratyphiques, le para B a 1,14 gramme de Na %, le para A n'a que 0,568 gramme %, et le bacille typhique 0,92 gramme %.

Dans le groupe des dysentériques, c'est Shiga qui contient le taux le plus élevé de Na, 1,18 gramme % ; Flexner et Y ont des taux voisins variant entre 0,73 et 0,79 gramme %.

Le micrococcus catarrhalis est le plus pauvre en Na (0,27 gr. %) ; le reste des microbes étudiés contiennent des quantités qui varient entre 0,78 et 0,90 gramme de sodium %.

Conclusions

Ces premières recherches sur la composition des cendres microbiennes nous permettent déjà de tirer quelques conclusions:

1° Toutes les bactéries étudiées par nous contiennent des

quantités de phosphore et de sodium de beaucoup supérieures à celles des autres constituants des cendres.

2° Le manganèse n'a pu être mis en évidence dans aucune des espèces analysées. Il était d'ailleurs absent ou n'existait qu'à l'état de traces dans le milieu de culture.

3° Il existe en général une différence très accentuée entre les formes « Rough » et « Smooth », des trois espèces microbiennes que nous avons étudiées (bacillus anthracis virulent, bacille Aertrycke et le vibrion cholérique).

Les formes Rough sont constamment plus riches en cendres que les formes Smooth. Cette différence est très accentuée pour le potassium, le calcium et le magnésium. La variante Rough a toujours un excès de K par rapport à Smooth. Pour le calcium et le magnésium, c'est tantôt l'un, tantôt l'autre de ces deux éléments qui est en excès dans les formes Rough.

4° Dans le groupe de la bactéridie charbonneuse, il y a des différences marquées entre les formes atténuées vaccin I et II et les formes virulentes. Le poids des cendres de ces dernières est 2 fois plus grand que celui des premières.

On constate pourtant le fait paradoxal, le vaccin II a un taux de cendres supérieur au vaccin I.

Les formes virulentes du bacillus anthracis sont plus riches en K que les vaccins I et II Pasteur. Une différence dans le même sens existe aussi pour le contenu en fer.

Par contre, lorsqu'il s'agit du calcium, ce sont les formes atténuées qui ont environ 7 fois plus de Ca que la forme virulente (Smooth).

Comme pour les cendres totales, le vaccin I est plus riche en K, Ca et P que le vaccin II.

5° Les staphylocoques sont tous, sans exception, extrêmement riches en potassium.

La richesse en calcium du staphylocoque blanc, vis-à-vis des staphylocoques pigmentés, nous permet de faire un rapprochement entre cette observation et la disparition des pigments des micrococcus prodigiosus cultivés par Bordet sur des milieux riches en calcium.

6° Nous croyons enfin que, pour avoir des résultats comparables, il est absolument nécessaire, dans des recherches dans le genre des nôtres, d'employer toujours le même milieu de culture; de très petites variations dans la composition de celui-ci entraînent souvent des modifications importantes dans la composition des cendres microbiennes.

La constance de ces résultats, dans des conditions de travail identiques, nous permet de croire qu'en multipliant ce genre de recherches, on pourrait peut-être arriver à utiliser ces données sur la composition chimique des cendres microbiennes, parallèlement à d'autres caractères, pour définir une espèce ou une race bactérienne.

Nous tenons, en terminant ce travail, d'attirer encore une fois l'attention sur les différences parfois considérables qui existent dans la composition chimique de races ou de formes de mutation très voisines. Il y a là un facteur de variation qui, dans l'évolution des espèces, a dû jouer un rôle des plus importants.

BIBLIOGRAPHIE

BAUDRAN : « Analyse du bacille tuberculeux. » (*C. R. Acad. Sc.*, CXLII, 1906, 657.)

BLANCHETIÈRE (A.) : « Sur une méthode de dosage du sodium. » (*Bull. de la Soc. chim. de France*, XXXIII, 1923, 807.)

BERTRAND et THOMAS : « Dosage colorimétrique du manganèse. » (*Guide pour les Manipulations de Chimie biologique*, 1919, 31.)

BORDET (P.) : « Influence du calcium sur les caractères des espèces microbiennes. » (*Annales de l'Institut Pasteur*, XLV, 1930, 26.)

BRAUN et GOLDSCHMIDT : « Die Bedeutung der Mineralien für den Stoffwechsel der Bakterien der Typhus-Coligruppe. » (*Zentralbl. f. Bakt.*, 1927, I. Abt. orig., Cl. 330.)

BRAUN et MUNDEL : « Zur Ernährungsphysiologie der Diphterie bazillen. » (*Zentralbl. f. Bakt.*, 1929, I. Abt. Orig., CXII, 26.)

BUROMSKY (J.) : « Die Salze Zn, Mg, Ca, K und Na und ihr Einfluss auf die Entwicklung von Aspergillus niger. » (*Zentralbl. f. Bakt.*, 1913, II. Abt. XXXVI, 54.)

CANALS (M.-E.) : « Du dosage du calcium et du magnésium dans différents milieux salins. » (*Bull. de la Soc. chim. de France*, XXIII, 1918, 422.)

CRAMER : « Die Zusammensetzung der Bakterien. » (*Archiv. f. Hyg.*, XXVIII, 1897, 1.)

FALK (I.-S.) : « Inorganic content of the bacteria. » (*Abstracts of Bakt.*, VII, 1923, 44.)

FRIEDLEIN (F.) : « Der quantitative Verwendungsstoffewechsel des paratyphus B. bacillus, des Bact. coli und des bacillus pyocyaneus. » (*Biochemische Zeitschr.*, CXCIV, 1928, 273.)

FROUIN (A.) et GUILLAUMIE (M.) : « Nutrition minérale du bacille tuberculeux. » (*Bull. de la Soc. de Chimie biol.*, VIII, 1926, 1151.)

ID. : « Influence de la concentration minérale du milieu et de l'âge des cultures sur la teneur en cendres du bacille tuberculeux. » (*C. R. Soc. Biol.*, XCIV, 1926, 1340.)

ID. : « Culture du bacille tuberculeux sur milieux synthétiques. » (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XLII, 1928, 667.)

GORIS (A.) et LIOT (A.) : « Composition chimique du bacille tuberculeux. » (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XXXIV, 1920, 497.)

GOTSCHLICH : « Allgemeine Morphologie und Biologie der pathogenen Microorganismen. » (*Handbuch der path. Microoganismen*, XXX, 1912, 292.)

GUILLEMIN (M.) et LARSON (W.-P.) : « The relation between the fixe and the free salts of Bacteria. » (*Journ. Infect. Dis. Chicago*, XXXI, 1922, 349.)

GRABAR (P.) : « Microméthode de dosage du sodium dans les milieux biologiques. » (*Bull. de la Soc. de Chimie biol.*, XI, 1929, 58.)

JAVILLIER (M.) et DJELATIDES (D.) : « Sur une méthode de microdosage volumétrique du phosphore et son application à l'analyse biologique. » (*Bull. de la Soc. de Chimie biol.*, X, 1928, 342.)

JAVILLIER (M.) : « Recherches sur la substitution au zinc de divers éléments chimiques pour la culture de l'Aspergillus niger. » (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XXVII, 1913, 1021.)

KAPPES : « Analyse der Massenculturen einiger Spaltpilze und der Soorhefe. » (*Leipzig Diss.*, 1891, cité par I. S. FALK dans *Abstracts of Bact.*, VII, 1923, 44.)

KAYSER : « Etudes sur la fermentation du cidre. » (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, IV, 1890, 321.)

KRAMER et TISDALL : « A chemical method for the quantitative determination of potassium in small amounts of serum. » (*Journ. of Biol. chem.*, XLVI, 1921, 339.)

LEULIER (A.) et SEDAILLAN : « Sur l'affinité du bacille dyphtérique pour le cuivre. » (*C. R. Acad. Sc. Paris*, CXCI, 1930, 231.)

MAQUENNE (M.-L.) : « Sur le dosage de très petites quantités de fer. » (*Bull. de la Soc. chim. de France*, XXIX, 1921, 585.)

NICOLLE et ALILAIRE : « Note sur la production en grand des corps bactériens et sur leur composition chimique. » (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, XXIII, 1909, 547.)

NIKOLSKY : « Ueber den Einfluss der Nahrung von verschiedenen Kohlenhydraten auf die Entwicklung der Schimmelpilze. » (*Centrabl. f. Bakt.*, 1904, Abt. II-XII, 656.)

ROBERG (MAX) : « Ueber die Wirkung von Eisen, Zink unf Kupfersalzen auf Aspergillen. » (*Centrabl. f. Bact.*, 1928, II. Abt. LXXIV, 333.)

SCHWEINITZ et DORSET : « The mineral constituents of the tubercle bacilli. » (*Journ. Amer. Chem. Soc.*, XX, 1898, 618.)

WINSLOW (C.-E.) et DOLLOFF : « The additive and antagonistic Effect of cations upon Bacterial viability. » (*Journ. of Bact.*, 1928, XV, 67.)

WAARD (J. DE) : « Eine Mikrobestimmung des Calciums in Blutserum und anderen organischen substanzen. » (*Biochemische Zeitschrift*, XCVII, 1919, 176.)

SUR UNE AFFECTION PARTICULIÈRE SIMULANT, AU POINT DE VUE CLINIQUE, LA SCLÉROSE EN PLAQUES ET AYANT POUR SUBSTRATUM DES PLAQUES SPÉCIALES DU TYPE SÉNILE

par le

Professeur G. MARINESCO

Membre de l'Académie roumaine,
Correspondant de l'Académie de Médecine de Paris.

I

Le cas anatomo-clinique qui fait le sujet de notre travail est exceptionnel, sinon unique, car notre malade a présenté, pendant son séjour à l'hôpital et pendant la longue évolution de la maladie, le tableau symptomatologique de la sclérose en plaques.

Or, à notre grande surprise, à l'examen anatomo-pathologique, nous n'avons pas trouvé les lésions caractéristiques de cette maladie, mais des foyers présentant une forte ressemblance avec les plaques dites séniles. Cependant, ils en diffèrent tellement par d'autres caractères que, même au point de vue d'histologie pathologique, ils offrent une physionomie tout à fait à part, qui nous permet de les distinguer des plaques qu'on a trouvées dans le cerveau de certains sujets atteints de démence sénile ou bien de la maladie d'Alzheimer.

C'est en vain que nous avons compulsé la littérature pour trouver un cas pareil. Peut-être il y en a-t-il, mais, jusqu'à présent, nous n'en avons pas pris connaissance.

C'est à ce double point de vue, clinique et histologique, que notre observation gagne un intérêt tout particulier. Nous allons donner tout d'abord l'observation clinique de notre malade.

La maladie qui amène, dans le service de la clinique, A. L...,

âgé de quarante-six ans, a débuté, en 1915, par un tremblement qui a commencé aux mains. Ce tremblement, qu'il avait remarqué tout d'abord lorsqu'il se faisait la barbe, a augmenté peu à peu. En outre, il n'avait plus de certitude dans ses membres inférieurs, de sorte qu'il ne pouvait pas marcher en ligne droite.

Ces troubles de la marche se sont accusés, et un an après il devait se servir d'une canne pour ne pas tomber.

Ensuite il a éprouvé des douleurs profondes dans les membres inférieurs. Un médecin consulté lui a recommandé des injections de néosalvarsan qu'il a abandonnées, n'ayant pas constaté la moindre amélioration. Il reprend cependant ces injections en 1920, pendant deux mois, mais le tremblement des membres supérieurs s'accentue, la paraplégie rend la marche de plus en plus difficile.

L'examen du sang pratiqué en 1922 (réaction de Bordet-Wassermann) a été négatif.

Au mois de novembre 1924, il entre dans le service de la clinique des maladies du système nerveux de Bucarest.

Il s'agit d'un sujet israélite, maigre, longiligne, micro-splachnique avec thorax déformé, allongé, en gouttière longitudinale. Au niveau du sternum, les rebords des côtes sont proéminents.

La parole nous frappe tout d'abord, car elle est scandée, monotone, inintelligible pour les mots plus complexes. Elle s'accompagne d'un rire spécial, véritable rictus d'aspect extrapyramidal, avec rides profondes autour des yeux et la bouche et saillie très apparente des faisceaux musculaires des peauciers du cou. Interrogé sur la cause de ce phénomène, le malade répond que la maladie le fait rire d'une façon irrésistible depuis plusieurs années.

La face est légèrement asymétrique, les traits sont plus accentués du côté gauche. Légère ptose de la paupière gauche, il ne peut fermer avec force l'œil droit. Les mouvements d'abduction des globes oculaires sont normaux, mais le mouvement d'élévation est réduit des deux côtés; il y a une insuffisance de la convergence et un nystagmus spontané horizontal, et aussi dans le sens vertical. Les pupilles inégales : dr. > g. Les réflexes à la lumière et à l'accommodation sont conservés. Légère exophtalmie bilatérale. Il ne peut siffler, mais peut éteindre la bougie à 40 centimètres. Lorsqu'il montre ses dents, la commissure labiale droite est moins écartée que la gauche.

La langue est agitée de tremblements. Il y a une déviation légère, vers la gauche, de la luette. Le réflexe pharyngien est aboli.

La mastication se fait avec difficulté; des aliments s'accumulent entre les gencives et la joue.

L'étude de la motilité volontaire des membres inférieurs et supérieurs montre qu'il peut exécuter tous les mouvements, mais ceux-ci sont lents, diminués comme amplitude et accompagnés de tremblements du côté droit. Cependant, la force musculaire est diminuée globalement. Les mouvements passifs montrent une spasticité avec contracture, appréciable surtout aux membres inférieurs en extension.

Les réflexes ostéo-tendineux sont tous exaltés; il y a clonus des pieds. Le réflexe cutané plantaire est en extension bilatérale. Tous les réflexes cutanés existent.

L'épreuve de l'index-nez montre que le malade ne garde pas la direction imprimée au cours des mouvements; il survient des tremblements augmentant d'amplitude à mesure qu'il rapproche son index du bout du nez. Les oscillations sont plus accusées à droite. Arrivé au but, il ne peut pas garder l'index sur le nez, car le doigt est animé de mouvements circulaires autour du bout du nez, Il ne peut porter un verre d'eau à la bouche, à cause du tremblement intentionnel qui est très accentué; au membre supérieur droit, il y a de l'adiadococinésie.

Dans le décubitus dorsal, le malade ne peut mettre avec précision le talon sur le genou du côté opposé. Dans ce mouvement de translation, la jambe oscille. Lorsqu'il passe du décubitus dans la position assise, il y a une flexion combinée du tronc et de la cuisse.

Il ne peut rester debout qu'avec grande difficulté. Le corps entier est dévié en arrière, l'équillibre est incertain. La démarche est très difficile, à peu près impossible à cause des tremblements; l'attitude est défectueuse et il y a un certain degré de spasmodicité. Le malade traîne les jambes et le pied qui porte s'appuie sur la moitié externe de la plante et la pointe des pieds. La jambe oscillante est en abduction et en rotation interne. La démarche a un caractère spasmodique.

Les réflexes tendineux, aussi bien aux membres supérieurs qu'aux membres inférieurs, sont très exagérés et même polycinétiques. Les réflexes cutanés crémastérien et abdominaux supérieur et moyen existent. Le réflexe abdominal inférieur des deux côtés est aboli. Signe de Babinski bilatéral.

La sensibilité tactile, douloureuse, thermique, vibratoire et articulaire est conservée. La malade accuse de temps en temps des douleurs le long des membres supérieurs et inférieurs.

Diminution de l'acuité visuelle des deux côtés.

L'évolution, au cours des sept ans qu'il a passés à la clinique des maladies du système nerveux, a été lentement progressive. On n'a jamais observé de troubles hépatiques, l'appétit était bon, mais le malade n'engraissait pas.

Quelque temps avant sa mort, les réflexes cutanés ont été modifiés dans le sens de leur diminution. Le malade présente en outre des troubles sphinctériens. Le besoin d'uriner est impérieux; il perd l'urine parfois. D'abord constipé, plus tard le malade a eu de l'incontinence d'urine et de matières fécales.

Pendant toute l'évolution de la maladie, il a gardé son rire spécial qui accompagnait la parole. En outre, le malade présentait des troubles psychiques évidents. Il n'était pas seulement désorienté dans le temps, mais ne pouvait préciser les dates exactes des grands événements, tels que la durée de la guerre mondiale, le nom des nations alliées et ennemies. Il avouait qu'il ne se rappelait plus. Mêmes troubles de la mémoire de fixation. Les calculs élémentaires tels que l'addition simple sont inexacts. Toutefois, il peut indiquer plusieurs mots qui commencent par la même initiale, peut trouver des expressions de sens opposé et remplir, mais d'une façon erronée, les phrases tronquées.

Du côté de l'appareil vestibulaire, voici ce qu'on trouve subjectivement, le sujet se plaint de vertiges. A l'examen vestibulaire objectif, on constate dans le regard de face un nystagmus horizontal vers la droite, mais seulement à l'œil droit. Les secousses sont rapides et parfois elles se succèdent en série de quatre ou cinq. Ce nystagmus n'est pas d'orientation constante. Il suffit d'une légère déviation du regard vers la gauche (et parfois même dans le regard de face) pour voir apparaître des secousses isolées, amples, horizontales et parfois en groupe vers la gauche. Pendant les mouvements nystagmiques d'un œil, l'autre œil reste immobile sur la ligne médiane. On n'observe jamais un nystagmus divergent, mais toujours l'alternance d'un nystagmus monoculaire gauche. Dans le regard latéral, il est toujours plus intense, mais quand on demande au malade de regarder à droite ou à gauche, les globes oculaires ne peuvent pas dépasser la ligne médiane en dedans. De même, la convergence est impossible pour les deux droits internes. Cependant, il nous est difficile de l'affirmer avec certitude, car les ophtalmologistes n'ont pu déceler aucune diplopie au verre rouge. D'autre part, il n'y avait pas un strabisme divergent manifeste. D'ailleurs, cette diplopie serait difficilement reconnaissable chez ce sujet qui a

un état mental particulier. Quoi qu'il en soit, cette paralysie des deux droits internes peut expliquer la présence de ce nystagmus monoculaire.

Pendant l'exploration instrumentale, on observe une accentuation du nystagmus spontané monoculaire. C'est l'épreuve rotatoire qui nous donne des résultats plus nets, car elle déclenche un nystagmus plus net et ample que les autres épreuves. Voici d'ailleurs le résultat de l'examen vestibulaire instrumental :

Epreuve rotatoire : après 10 tours en 20 secondes vers la droite, on provoque un nystagmus monoculaire gauche persistant 25 secondes. Pendant les premières secondes, on observe quelques secousses fines, même à l'œil droit, qui cependant ne dépassent pas la ligne médiane vers la gauche. Le globe oculaire gauche offre des secousses nystagmiques amples et rapides vers la gauche.

Après 10 tours vers la gauche, on provoque un nystagmus horizontal ample vers la droite, mais seulement de l'œil droit. Cependant, après une série de cinq à six secousses vers la droite, les deux globes oculaires sont portés d'une façon tonique à gauche (l'œil ne dépasse pas la ligne médiane), d'où il résulte un aspect strabique. Il s'ensuit une espèce de nystagmus monoculaire interrompu, expression non seulement d'une paralysie, mais aussi d'un trouble dystonique oculaire.

L'excitation provoquée par la rotation a donc comme effet d'exagérer le nystagmus monoculaire spontané à l'œil droit ou gauche, d'après le siège de l'irritation.

On obtient les mêmes résultats par les épreuves galvaniques et caloriques, mais dans ce cas le nystagmus est moins ample. Ajoutons cependant que ni à droite ni à gauche, dans la position II de Barré, nous n'avons remarqué une transformation giratoire du nystagmus horizontal.

D'ailleurs, mise à part cette particularité du nystagmus monoculaire, nous avons constaté un seuil d'excitation un peu bas et des réactions toniques normales.

La ponction lombaire a donné issue à un liquide clair avec des réactions humorales et cytologiques négatives.

En résumé, il s'agit d'une maladie lentement progressive caractérisée par une atteinte bipyramidale avec spasmodicité et exaltation des réflexes, troubles de la coordination et tremblement nettement intentionnel, nystagmus et dissociation des mouvements oculaires, rire involontaire et parole difficile, avec déficit psychique global.

II

EXAMEN ANATOMO-HISTOLOGIQUE

A l'examen macroscopique du système nerveux, nous n'avons pas décelé, à notre grande surprise, les altérations qui constituent la sclérose multiple. Nous n'avons pas trouvé de plaques ni dans la moelle, ni dans le bulbe, ni dans le cervelet. La substance blanche du cerveau était également intacte. Mais un examen attentif à la loupe nous a montré, au niveau du quadrilatère de P. Marie, de petits et nombreux foyers qui intéressaient les capsules externe et interne (fig. 1). Ils étaient encore plus visibles dans le pied du pédoncule (fig. 2), dans la substance noire et du noyau rouge du côté gauche qui était jaunâtre et de faible consistance.

L'examen histologique nous a permis de préciser, quelle que soit la méthode utilisée, que la structure de ces foyers rappelait celle des plaques dites séniles. On peut, d'une façon générale, reconnaître deux espèces, les unes pâles n'ayant pas d'habitude de noyau central, et d'autres foncées; parfois, on y peut reconnaître un noyau, une couronne et une région intermédiaire.

Nous avons été frappé par la manière de comportement des plaques à l'égard des colorants. C'est ainsi que, dans les pièces traitées par le Congo, les plaques prennent une coloration rouge pourpre plus ou moins foncée, avec quelquefois un centre plus clair ou violacé. Au Mallory, elles sont d'une coloration rose orange avec centres de la même couleur, plus foncé; au Best, carminées avec couronnes plus claires allant jusqu'au rose pâle ; au Scharlach-hématoxyline, leur teinte est ocre jaune qui parfois est plus foncée, quelquefois terre de Sienne transparente ; au Van Gieson, le noyau de la plaque est orange et la couronne gris clair. Par la méthode pour la mise en évidence du fer, nous avons une image caractéristique dont l'explication est donnée sur la légende des figures (fig. 1 *bis*).

La thionine colore les plaques en bleu cœruleus et, au Heidenhein-Congo, la coloration est très irrégulière, d'un rouge pourpre orangé quelquefois plus pâle, de tonalité rosâtre.

La topographie des plaques est toute différente de ce que les auteurs et nous-même l'avons constatée antérieurement. En effet,

elles siègent presque exclusivement dans la substance blanche, aussi bien dans les hémisphères du cerveau que dans les régions subcorticales. Un nombre extraordinairement grand se trouve dans la capsule externe et les segments interne et postérieur de la capsule interne, respectant le putamen et le globus pallidus (fig. 1).

Dans le pédoncule, elles occupent la substance blanche du pied du pédoncule à la périphérie du noyau rouge, en écartant les fais-

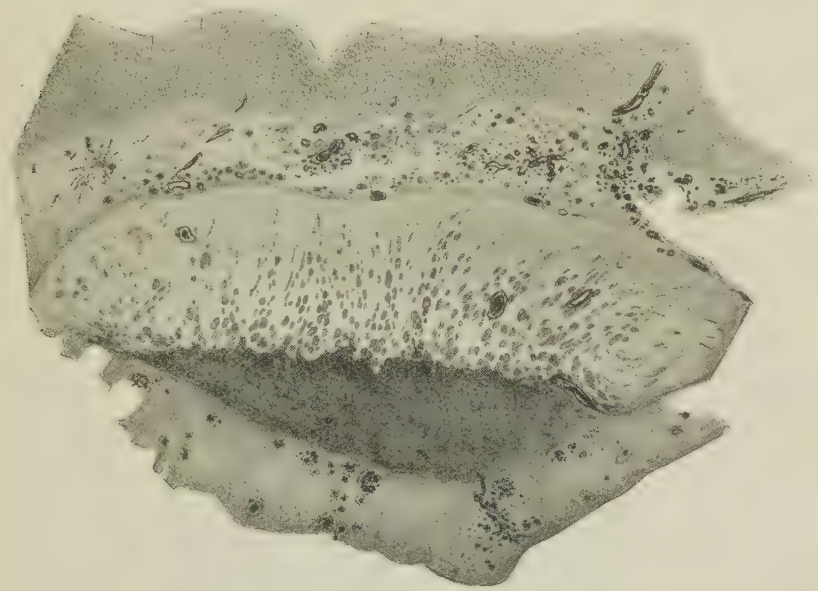


Fig. 1. — Nombreux foyers qui intéressent les capsules externe et interne, respectant le putamen et le globus pallidus.

ceaux du nerf moteur oculaire commun (fig. 2 et 3) (1). Il y en a aussi dans la substance noire et dans la profondeur du noyau rouge gauche. Elles font défaut dans les tubercules quadrijumeaux interne et externe et dans les noyaux du moteur oculaire commun.

Dans le pédoncule, il y a peu de plaques pâles et une grande abondance de plaques foncées qui donnent toutes les réactions de l'amyloïde et des lipoïdes, lorsqu'on fait usage de la méthode de Herxheimer.

(1) Voir les planches en couleurs à la fin du travail (fig. 1 *bis*, 2, 5, 6, 7, 12 *bis* et 13).

La paroi des petits vaisseaux est extrêmement épaisse et constituée par des couches dont quelques-unes donnent les réactions de l'amyloïde, d'autres celle du hyalin. Le hyalin se trouve même à l'intérieur des petits vaisseaux dont la lumière est oblitérée. La conséquence de ce thrombus hyalin, c'est la malacie du tissu environnant qui tombe dans les coupes traitées par la congélation. Il y a ensuite des dépôts de calcium dans les vaisseaux.

Dans le pédoncule, au niveau du conglomérat des vaisseaux à parois altérées et des dépôts considérables de substance constituant un mélange d'amyloïde, le Congo fait voir une teinte rouge laque cramoisi.

Les plaques pâles se teintent en rouge violacé. Dans le pédoncule on voit, au Giemsa, des bandes et des taches mauves sur fond bleu électrique. Avec le lugol, le noyau est rouge saturnin et la couronne jaune clair; le noyau des autres plaques est jaune brun clair.

L'amyloïde de la rate est rosâtre; dans le foie, il est rouge violet, tandis que dans le rein et le pédoncule, il est rouge pourpre.

La coloration au Giemsa me permet de constater une différenciation de nuances et des couleurs les plus remarquables soit des plaques, soit de la paroi des vaisseaux.

Dans la protubérance, les plaques sont extrêmement nombreuses au niveau de la partie dorsale du groupe de fibres du faisceau pyramidal, et il y en a quelques-unes au niveau du ruban de Reil médian (fig. 4).

Toutes les couleurs d'aniline donnent une métachromie et, surtout, le violet de crésyle montre une gamme de teintes remarquables qui témoignent, avec la dernière évidence, que toutes les plaques et même leur couronne ne peuvent pas avoir la même constitution chimique.

Ainsi, s'il y a des plaques dont le noyau est rouge pourpre, d'autres ont leur noyau rouge violet, violet, violet grisâtre, bleu violet et même bleu clair.

Le noyau central morcelé peut offrir des modalités variables. Les plaques pâles, dont nous avons parlé, se teintent en bleu clair.

Même remarque pour la paroi des vaisseaux, avec la constatation que cette paroi n'est pas uniformément colorée : une partie peut être bleu clair et l'autre violet ou violet pourpre.

Au niveau de la capsule externe et de la capsule interne, dans les pièces traitées par la méthode de Van Gieson, les plaques pâles sont rose carminé; celles foncées, carminées, le noyau rouge carminé et la plaque carmin orangé.

Au Penfield-Scharlach, les plaques sont pâles et violacées, leur noyau est ocre rouge foncé et la couronne rouge brique très clair.

La distinction que nous faisons entre les plaques pâles et foncées a un fondement physico-chimique ainsi que cela résulte de l'emploi des différentes méthodes. Ceci est vrai aussi en ce qui concerne la méthode de Herxheimer Scharlach-hématoxyline. En

Fig. 3. — Topographie des plaques dans le pédoncule et le noyau rouge.

effet, il y a des plaques, assez rares d'ailleurs, qui ne prennent pas du tout le rouge écarlate et le Soudan. Il y en a d'autres pâles qui se teintent en jaune; par contre, dans les plaques foncées leur noyau se colore en rouge orange, tandis que la couronne reste incolore (fig. 5) ou se teint en jaune pâle.

En outre, la paroi des vaisseaux n'a pas la même coloration rouge orange que le noyau des plaques, et ces derniers n'ont pas toujours la même intensité de coloration jaune orange.

Les noyaux de la base, de même que les formations grises sous-thalamiques et le tuber, ne contiennent pas de plaques, mais dans le thalamus, près de la capsule interne, on trouve un assez grand nombre de plaques pâles de dimension variable en général, sans noyau central, et sans réaction microglique intense.

L'altération des parois des vaisseaux est aussi minime et donne rarement la réaction du Congo positive. Néanmoins, on voit dans

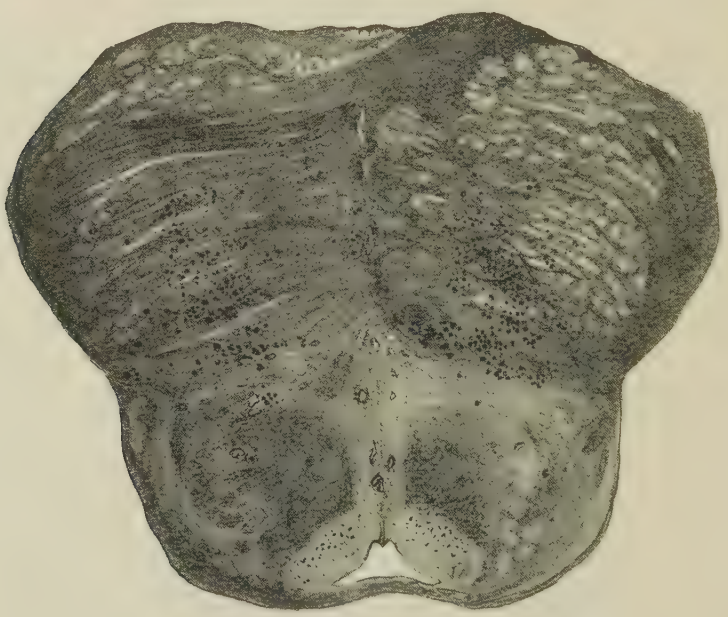


Fig. 4. — Topographie des plaques dans la protubérance.

quelques plaques, soit à la périphérie, soit vers le centre, une multiplication des cellules microgliques tuméfiées et dont les prolongements subissent différentes transformations.

On a l'impression qu'il s'agit là des plaques jeunes qui n'ont pas encore évolué, parce que un bon grand nombre d'entre elles sont dépourvues de cellules de microglie. Elles diffèrent nettement, dans les pièces traitées par la méthode de Penfield + Congo, par l'absence de la réaction de Congo, tandis que les plaques de la capsule interne, où il y a des altérations considérables, donnent les réactions de l'amyloïde et celles des lipoïdes (fig. 5).

Nous constatons la même diversité de couleurs et de tons dans les pièces traitées par le bleu de Nil. En effet, les plaques claires et parfois la couronne se colorent en bleu clair, tandis que le noyau est bleu cobalt ou bleu violet, voire même violet.

Les fragments résultant de la dissolution du noyau central se teintent parfois en mauve et les granules qui se trouvent dans les cellules de microglie, tantôt en rouge pourpre, tantôt en bleu. Cette dernière couleur s'observe aussi dans les corps granuleux dérivant de la microglie.

On observe la même diversité de coloration dans les couches des vaisseaux. La couche interne prend plutôt une teinte bleu clair, tandis que les couches moyenne et externe se teintent en bleu violet.

Les pièces au Best ne donnent pas la réaction du glycogène, mais on peut constater des granules de glycogène dans quelques cellules de microglie (fig. 6).

Coupes non traitées au lugol et sans coloration. — Les plaques séniles non traitées au lugol, non colorées au rouge Congo (méthode Bechold-Letterer) sont, sur toute leur surface, monoréfringentes (isotropes).

La myéline est biréfringente et présente le phénomène de la croix de polarisation.

Coupes traitées par les dissolvants des graisses. — Les plaques séniles traitées par l'alcool, le xylol, l'éther sulfurique, passées à l'alcool à chaud sont isotropes.

Les plaques séniles traitées au lugol avec ou sans acide sulfurique, passées à l'alcool, au xylol, à l'éther sulfurique à chaud, redeviennent biréfringentes après un nouveau traitement au lugol.

Coupes traitées au lugol ou au lugol-acide sulfurique. — Les plaques séniles, dans les régions lugolophiles à aspect métachromatique (noyau de la plaque et parfois de la couronne de la plaque), sont biréfringentes.

Les plaques séniles, dans les régions prenant électivement le rouge Congo (noyau de la plaque et parfois la couronne), sont biréfringentes.

Dans ces deux cas, le noyau ou les noyaux lugolophiles ou à affinité tinctoriale spécifique pour le rouge Congo présentent le phénomène de la croix de Malte au microscope polariseur (fig. 8).

Les vaisseaux à dégénérescence amyloïde traités par le lugol ou le rouge Congo présentent de nombreuses figures de biréfringence à la lumière polarisée (fig. 9).

La myéline n'est pas lugolophile et ne se colore pas par le rouge Congo (1).

Conclusion : 1° dans notre cas, l'examen histologique montre la coexistence d'une amyloïdose des vaisseaux et de certaines régions altérées du cerveau, des pédoncules, de la protubérance, du bulbe, de la rate, des reins et du foie avec des plaques séniles.

2° Le comportement identique de l'amyloïdose des vaisseaux et de la substance des plaques lugolophiles ou spécifiquement colorables au lugol, c'est-à-dire lugolophilie, coloration au rouge

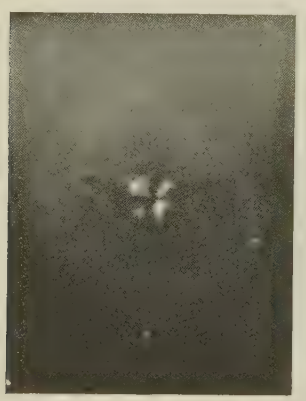


Fig. 8. — Plaque présentant le phénomène de croix de Malte au microscope polarisateur (pièce traitée au lugol).

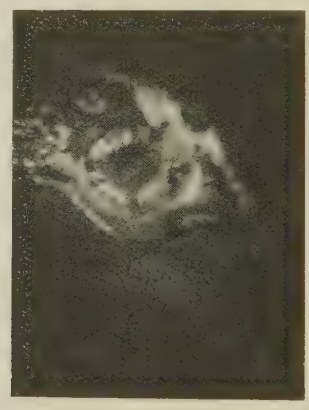


Fig. 9. — Vaisseau à dégénérescence amyloïde traité au lugol, présentant de nombreuses figures de biréfringence.

Congo biréfringente, uniquement après le traitement des coupes par le lugol ou par les colorants spécifiques de l'amyloïde monoréfringente sur des coupes non colorées.

3° L'amyloïde paraît être monoréfringente, sa biréfringence étant due à des substances qui s'ajoutent aux produits de désintégration des plaques ayant subi la transformation amyloïde.

4° La biréfringence des plaques ne paraît pas être due à la disposition spéciale de ses composants fibrillaires.

(1) Toutes ces données sont dues à la collaboration effective de M. Serban Bratiano, et nous comptons revenir d'une façon plus détaillée sur la question de la biréfringence dans notre cas.

5° Les réactions de la myéline, vis-à-vis du lugol, du rouge Congo et du microscope polariseur, sont différentes.

6° Les noyaux des plaques qui sont biréfringents paraissent être parfois primitifs, car on trouve de petits noyaux lugophiles et métachromatiques au lugol-acide sulfurique, sans couronne.

7° Aussi, les réactions de ces noyaux vis-à-vis du lugol, rouge Congo et du microscope polariseur peuvent être précoces.

8° L'évolution de la plaque sénile, traitée par le lugol et étudiée à la lumière polarisée, peut être schématisée de la manière suivante :

Formation du noyau primitivement biréfringent, lugolophile et spécifiquement colorable au rouge Congo à croix de Malte, puis noyau à croix de Malte et couronne isotrope (monoréfringente). Le stade suivant est représenté par le noyau biréfringent présentant le phénomène de la croix et par une couronne partiellement biréfringente; enfin la plaque sénile devient totalement biréfringente, présentant dans son *aire* de nombreuses portions qui montrent le phénomène de la croix de polarisation.

9° La coloration homogène de la substance des plaques par la méthode de Best n'est pas due à la présence du glycogène, car les coupes traitées par la salive, lavées à l'eau et même fixées directement dans le formol, présentent vis-à-vis du carmin de Best les mêmes propriétés que les pièces fixées dans l'alcool.

10° Le phénomène de biréfringence et de la croix de polarisation n'est mis en évidence que par les colorants ou par les substances ayant une affinité spéciale pour les substances amyloïdes.

Pour l'étude de la microglie, nous avons utilisé la méthode de Hortega et de Penfield. Je dois ajouter que les cellules de Hortega sont visibles même dans les pièces traitées par les méthodes de Mallory, de Herxheimer, la coloration au Congo, etc.

Un phénomène important, qui mérite d'être relevé, est la plasticité des cellules de microglie qui prennent différentes formes et s'attachent aux fragments du noyau central en dissolution, qu'elles embrassent intimement.

Dans ces conditions, nous avons affaire tout simplement à une microglie de migration, mais il y a, à coup sûr, une multiplication considérable sur place qui forme parfois une espèce de couronne à la périphérie des plaques (fig. 10).

S'il y a des plaques qui ne contiennent pas de microglie, je n'ai jamais rencontré une réaction microglique aussi riche comme dans le cas actuel ; mais les cellules de Hortega se comportent différemment dans la couronne et le noyau. Pour atteindre ce

dernier, des cellules de microglie se frayent un chemin, à travers la couronne, affectant des formes différentes et parfois sont disposées d'une façon rayonnante. La microglie subit des modifications profondes au niveau des boules résultant de la fragmentation du noyau central. Ceci s'explique, à notre avis, par l'état physico-chimique différent du noyau central qui est un mélange de plusieurs substances et qui a une constance plus grande.

La microglie, en vertu de son activité phagocytaire, digère la

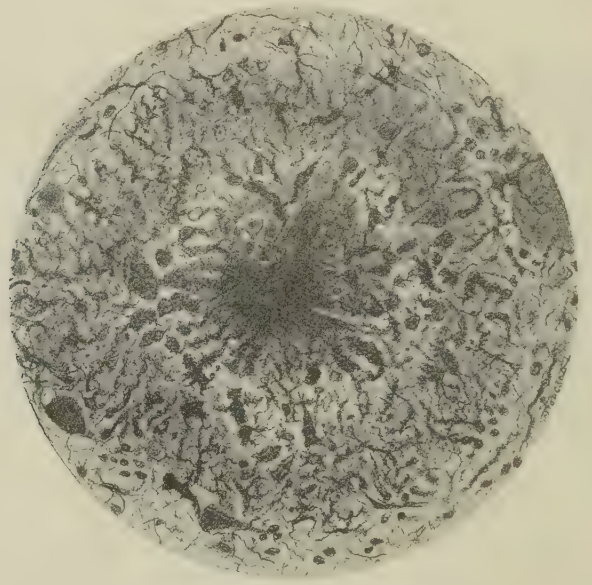


Fig. 10. — Plaque offrant une prolifération microglique considérable. Les cellules de Hortega s'attachent aux fragments du noyau central en dissolution et forment une couronne à la périphérie de la plaque.

périphérie du noyau central où elle creuse des espèces de canaux pour s'y loger et continuer son œuvre.

Aussi nous trouvons que, non seulement la forme des cellules microgliques varie, car à la surface du noyau nous voyons des corps granuleux microgliques, mais leur contenu varie aussi. Les cellules de Hortega siégeant dans la couronne ont une structure spongieuse ou fibrillaire et ne contiennent, assez souvent, que des granulations argentophiles. Au contraire, à la périphérie du noyau central, elles sont bourrées de granules argentophiles, de

gouttes de lipoïdes ou des granulations donnant la réaction du fer. Cette réaction de bleu de Turnbull est tellement abondante que, parfois le noyau central est délimité par une espèce de couronne formée par des cellules microgliques ferrugineuses.

Au fur et à mesure que la phagocytose évolue, la substance du noyau central se dissout et il en résulte des fentes et des cavités dans lesquelles on peut reconnaître des fragments de sa substance.

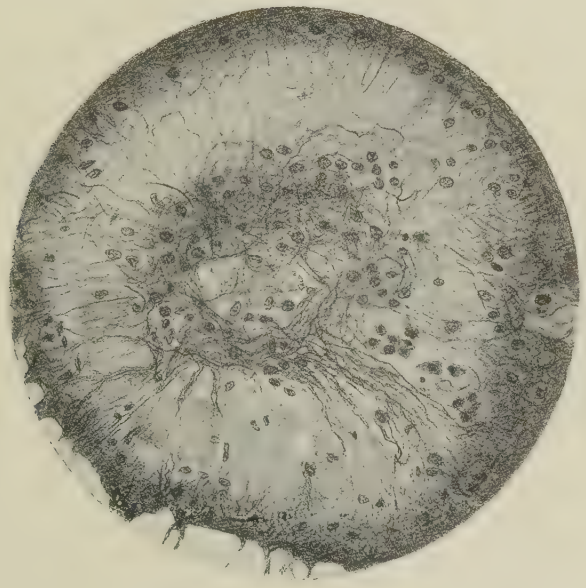


Fig. 11. — Plaque au Mallory dont le noyau central détruit est envahi par des fibrilles de névroglie formant un feutrage assez dense.

Un autre caractère des plaques dans le cas qui nous occupe, c'est la réaction névroglique qui n'est pas localisée seulement a la périphérie, car les prolongements névrogliques pénètrent dans la couronne, et la méthode de Mallory permet de voir les régions du noyau central détruit envahies par des fibrilles de névroglie formant un feutrage assez dense (fig. 11).

Une question posée par plusieurs auteurs, c'est de savoir si la formation des plaques est précédée ou non par une modification du réticulum névroglique où se dépose le matériel qui les constitue. Nous admettons à titre d'hypothèse qu'il y a deux facteurs

qui interviennent dans la genèse de ces plaques. Le premier, consistant dans une modification de l'équilibre colloïdal du plasma interstitiel qui favorise la transformation du sol de cet élément en gel, et le second facteur est représenté par une modification de la perméabilité de la paroi cellulaire avec altération plus ou moins tardive des éléments de cette paroi ayant subi une dégénérescence amyloïde. Nous pensons en outre que le milieu cérébral, en raison des modifications du *p*H, favorise la floculation des substances constituant ces plaques, car elles n'existent pas dans les organes où nous avons trouvé la dégénérescence amyloïde.

Nous devons ajouter quelques mots sur l'oligodendroglie étudiée par la méthode de Penfield, n'ayant pas à notre disposition la publication de del Rio Hortega concernant sa méthode spécifique pour l'oligodendroglie. Nous pouvons affirmer, cependant, qu'il y a une multiplication des cellules d'oligodendroglie interstitielle, périneuronale et périvasculaire. Nous avons assez souvent rencontré l'altération décrite par Penfield sous le nom de tuméfaction aiguë.

Comme je l'ai montré, en collaboration avec M. I. Minea, il y a dans les plaques séniles quelques épisodes de régénérescence. A la périphérie des plaques, il y a des neurofibrilles finissant par des boutons souvent réticulés.

Un phénomène intéressant, c'est l'altération considérable des vaisseaux et leur relation avec les plaques.

En effet, je n'ai jamais trouvé des vaisseaux ayant conservé leur structure normale au niveau des régions atteintes; souvent elles donnent au Congo et au lugol les réactions de l'amyloïde, mais en ce qui concerne l'iode, on ne constate pas seulement le brun acajou, mais aussi une teinte verdâtre (fig. 7).

D'autre part, on voit comment la substance de la plaque est souvent une diffusion de celle qui se trouve dans la paroi des vaisseaux. Mais il n'est pas rare, sur les coupes transversales des vaisseaux, de voir autour et au voisinage de leur paroi une plaque; quand le petit vaisseau est coupé longitudinalement, on voit la relation étroite entre la plaque et la paroi du vaisseau (fig. 12). Une image très caractéristique de la relation des plaques avec les capillaires, c'est la réaction de la microglie qui nous est offerte par la figure, où on voit un capillaire coupé longitudinalement compris dans une plaque, et la participation des cellules de microglie, disposées d'une manière radiée à la périphérie, qui représentent la couronne, tandis que les mêmes cellules s'insèrent verticalement sur la paroi des vaisseaux.

Enfin, au point de vue anatomo-pathologique, il faut souligner la relation intime entre la genèse des plaques et l'altération des vaisseaux, qui offrent une transformation hyaline et amyloïde comme on ne l'a jamais décrit jusqu'à présent, en cas de plaques séniles.

De plus, cette transformation amyloïde a été constatée non seulement dans les centres nerveux, mais aussi dans les viscères. Il s'agit par conséquent d'une espèce d'amyloïdose généralisée.

Il n'entre pas dans notre intention de nous occuper ici d'amy-

Fig. 12. — Montrant un vaisseau coupé longitudinalement présentant autour de ses parois une plaque.

loïdogénèse, et de son rapport avec le hyaloïde de la couronne de la plaque et les plaques sans noyau central.

M. Divry, dans son intéressant travail (1), a esquissé le problème en indiquant les recherches expérimentales concernant la formation de l'amyloïde. On peut dire qu'on a fait quelques progrès en ce qui concerne le mécanisme intime de l'amyloïdose, mais ils sont encore incomplets pour élucider la production des altérations vasculaires et de plaques séniles dans notre cas. Le fait essentiel qui se dégage des constatations faites par nous,

(1) Dr Divry (Paul) : « Etude histo-chimique des plaques séniles. » (*Journal de Neurologie et de Psychologie*, novembre 1927.)

c'est qu'il y a des types morbides, dans lesquels il entre également notre observation anatomo-clinique, qui se trouvent en rapport intime avec des troubles profonds du métabolisme et spécialement de l'amyloïde.

Déjà, quelques auteurs, et surtout Bielschowsky, ont insisté sur l'association de la maladie de Niemann-Pick avec les diverses formes d'idiotie amaurotique où la maladie de Niemann-Pick, comme la maladie de Gaucher, repose sur des troubles du métabolisme lipoïdique, ce qui veut dire qu'il faut introduire, dans le mécanisme de production de certaines maladies du système nerveux central, la notion de troubles du métabolisme des cellules et des humeurs de l'organisme.

Or, ces troubles du métabolisme se trouvant en relation intime, ainsi que je l'ai soutenu à plusieurs reprises, avec le mécanisme des oxydoréductions, il me serait difficile, sinon impossible, d'aller plus loin et de préciser la cause première de ces troubles, et l'antigène qui réalise les troubles du métabolisme dans la sénilité et surtout dans notre cas.

A l'examen macroscopique du foie, nous sommes frappés par la dilatation extraordinaire de la vésicule biliaire qui contient une quantité considérable de calculs qui donnent la réaction de la cholestérine. En outre, il y a un vaste placard de transformation calcaire qui occupe une bonne partie du lobe droit (fig. 12 *bis*).

L'origine de cette transformation calcaire est obscure pour nous.

A l'examen histologique, nous avons trouvé, en dehors de l'amyloïde périvasculaire, des granulations possédant l'aspect histologique de follicules tuberculeux sans y avoir découvert de bacilles de Koch.

On pourrait supposer que les altérations du foie consécutives aux nombreux calculs, ou bien l'existence de la tuberculose latente, ont déclanché une altération de l'équilibre des phases qui constituent les humeurs et les tissus vasculaires.

C'est là un point sur lequel je compte revenir dans un autre travail.

Une autre particularité de notre cas, c'est que la transformation amyloïde n'existe pas seulement dans les plaques et les parois des vaisseaux des régions atteintes du cerveau, mais les vaisseaux du rein, de la rate et du foie offrent aussi une amyloïdie, et dans ces conditions l'affection de notre malade simulant la sclérose en plaques nous apparaît comme un trouble du métabolisme en relation avec les modifications biochimiques des humeurs de l'orga-

nisme, qui floculent de préférence dans certaines régions de la substance blanche du cerveau et du pédoncule.

Sans doute, il y a un trouble dans l'activité des ferments qui président à l'équilibre des phénomènes d'oxydo-réduction. Cette hypothèse n'a rien d'excessif, étant donné qu'il y a certaines affections comme celle de Gaucher et la maladie de Niemann-Pick, où Bielschowsky et moi-même avons montré qu'il existe un trouble du métabolisme des lipoïdes.

Il est vrai que les plaques dites séniles ont joué un rôle essentiel dans la production des phénomènes simulant la sclérose en plaques, et de pareilles plaques n'existent nulle part dans cette affection, que dans notre cas. Mais je dois ajouter que j'ai trouvé parfois, dans la substance blanche, une infiltration considérable de la paroi vasculaire par des lymphocytes, et aussi des manchons périvasculaires dans le noyau caudé.

En résumé, ce qui caractérise les plaques dans le cas actuel, c'est leur topographie, leur volume, leur nombre et leur structure.

Topographie. — Elles siègent non pas dans l'écorce, mais dans l'avant-mur de la capsule interne, la substance noire, le pied du pédoncule et la protubérance; elles font défaut dans le bulbe et la moelle.

Volume. — Il y a de petites plaques microscopiques mesurant 10 $\mu \times 10 \mu$; d'autres sont visibles à l'œil nu, résultant de la confluence des premières. Les grandes atteignent 260 $\mu \times 200 \mu$ (objectif, 40 Zeiss; oculaire micromètre, 2).

Leur nombre est considérable. C'est ainsi que, sur un champ microscopique (obj., 8; oc., 7 Zeiss), on peut retrouver de 105 à 115 plaques dans la calotte de la protubérance.

Structure. — Malgré que les plaques, dans notre cas, ressemblent aux plaques séniles, elles en diffèrent cependant par leur siège, leur volume, leur nombre et surtout par leur structure qui varie avec les méthodes utilisées, mais presque toutes offrent un noyau central et une couronne périphérique. Le contour du noyau central est rarement régulier, il est d'habitude échancré, festonné par l'action destructive des cellules de microglie.

Le noyau est toujours biréfringent, il se colore par le lugol. Dans ce dernier cas, au microscope polarisant, elles sont biréfringentes (Bratianu, Marinesco).

Les méthodes de Hortega et de Penfield nous montrent le rôle considérable de la microglie dans la digestion du contenu de la plaque. Les cellules de microglie pénètrent dans le noyau central

en créant des canaux, des galeries où elles se logent; leurs protoplasma contient, suivant la méthode utilisée, du fer (fig. 13), des lipoïdes et, plus rarement, du glycogène (fig. 6). La méthode de Cajal au sublimé-or, pour la névroglie, et celle de Mallory nous rendent compte du rôle important de toutes les cellules de névroglie soit à la périphérie, soit au centre de la plaque. A la périphérie, elles s'hypertrophient, se multiplient; leurs prolongements embrassent les plaques, pénètrent même à l'intérieur de celles-ci où la méthode de Mallory nous montre des astrocytes avec de nombreux prolongements qui remplacent la substance du noyau central en désintégration.

Les plaques sont presque toujours en relation avec les vaisseaux présentant le phénomène de biréfringence.

III

Nous n'allons pas passer en revue les opinions courantes sur la structure des plaques séniles; on en trouvera des détails assez complets dans deux publications que j'ai publiées il y a deux ans. Mais, depuis lors, sont parus trois articles, l'un de Bela Hechst (1) sur l'histochimie et l'histogénèse des plaques séniles, les autres de Alméida Diaz (2) et de Braunmühl qui méritent notre attention. Voici les conclusions de Bela Hechst :

1° Le noyau et la couronne des plaques séniles présentent toutes les réactions de l'amyloïde (iode, iode-acide sulfurique, méthyle violet, rouge de Congo); en outre, leur insolubilité, leur grande résistance à la putréfaction, etc., correspondent au comportement de l'amyloïde.

2° L'amyloïde des plaques tire son origine du système nerveux; très probablement, il est un produit de désintégration qui résulte du métabolisme vicié des cellules nerveuses.

3° Dans l'amyloïdose généralisée, on ne trouve l'amyloïde que dans le plexus choroïdien.

4° La formation des plaques débute par la précipitation de l'amyloïde soluble, sous forme de cristaux qui font leur apparition surtout autour des vaisseaux.

(1) Béla Hechst: « Zur Histochemie und Histogenese der Senilen Plaques. » (*Arch. f. Psychiatr.*, vol. 88, n° 1, 1929.)

(2) Almeida Diaz (A.) : « Untersuchungen ueber die Senilen Plaques. » (*Zeitschr. f. d. ges. Neurol. u. Psychiatr.*, vol. 128, n°s 1-4, 1930.)

5° L'amyloïde précipité joue le rôle d'un corps étranger, irritant d'abord la microglie. Les cellules de Hortega présentent, autour du noyau des plaques, une prolifération et une disposition radiée; elles peuvent dégénérer et finissent parfois par mourir. Ces cellules ne jouent pas un rôle actif dans la formation des plaques, leurs modifications ont un caractère réactionnel.

6° La réaction de la microglie apolaire n'a pas d'importance dans la structure des plaques.

7° La macroglie ne participe pas à la formation des plaques, elle forme autour des plaques un anneau fibreux qui isole l'amyloïde.

8° La lésion des neurofibrilles d'Alzheimer n'a pas de relation avec l'amyloïde, par conséquent elle ne participe pas, au point de vue génétique et chimique, à la formation des plaques. Qu'il me soit permis d'ajouter que Minea et moi (1) nous n'avons jamais soutenu, comme le croit M. Béla Hechst, que les plaques séniles et la lésion d'Alzheimer sont formées par les mêmes substances, mais nous avons rapproché ces deux lésions parce qu'il s'agit, dans l'une comme dans l'autre, de la séparation des phases et de la précipitation d'un sol et sa transformation en un gel.

A notre avis, il s'agirait donc, par conséquent, d'une ressemblance de mécanisme et non pas d'identité de la substance précipitée.

A. Alméida Diaz (2), en étudiant 12 cas de démence sénile et 3 cas de maladie d'Alzheimer, est arrivé à la conclusion que les plaques séniles tirent leur origine de la modification du tissu fondamental névroglique.

D'après lui, le noyau de la plaque est un phénomène tardif, il est absent au moment de l'apparition de la plaque. Il est composé par une ou plusieurs cellules de Hortega qui ont subi une dégénérescence spéciale aboutissant parfois à la formation d'un corps cristalloïde. Les cellules nerveuses altérées, voire même les astro-

(1) Marinesco (G.) : « Sur la structure des plaques dites séniles. » (*C. R. Soc. Biol.*, 1911, t. LXX, p. 606.)

Id. : « Etude sur la constitution des plaques dites séniles. » (*Ibid.*, 6 avril 1911.)

Id. : « Nature des plaques séniles. » (*Ibid.*, 4 mai 1911.)

Id. : « Untersuchungen über senile plaques. » (*Mschr. Psychiatr.*, 3. Erg., Heft 1912.)

Id. : « Nouvelles recherches sur les plaques séniles. (*Encéphale*, 1928.)

Id. : « Nouvelles recherches sur les plaques séniles. » (*Arch. roum. de Path. expér. et de Microb.*, t. I, n° 4, décembre 1928.)

(2) Diaz (A.-A.) : « Untersuchungen ueber die senilen Plaques. » (*Zeitschr. f. d. Ges. Neurol.*, vol. 128, n°s 1-4, 1930.)

cytes dégénérées qu'on retrouve dans certaines plaques, représentent un phénomène accidentel sans aucune relation avec la production des plaques. Ces cellules ont seulement un rôle passif, elles dégénèrent et meurent, et le détritus est phagocyté par les éléments microgliques.

Ce sont les cellules de microglie qui jouent le rôle principal et actif dans la transformation des plaques; la macroglie ne fait qu'envelopper les plaques et, à un degré moindre que la microglie, elle exerce une action de désintégration, l'oligodendroglie n'a pas un rôle essentiel dans les plaques.

Dans les plaques, au premier stade, on ne peut pas déceler un précipité de substance étrangère. Dans les stades postérieurs, leur noyau présente des réactions histochimiques d'une substance analogue à l'amyloïde qu'il ne faut pas confondre avec l'amyloïde pur.

D'après A. Diaz, les noyaux doivent être considérés comme un produit de désintégration spéciale de la microglie. Comme on devait s'y attendre, A.-A. Diaz, à l'aide des réactions histologiques, n'a pas pu déterminer la composition chimique exacte de la substance de la plaque au début.

Une partie de la substance digérée par la microglie est transformée par ces cellules en graisse, car certaines cellules de Hortega, qui s'accumulent au centre de la plaque, se transforment en corps granuleux.

Toutes les plaques classiques examinées par Diaz au microscope polarisant étaient monoréfringentes.

Les cristaux biréfringents décrits par Tinel, Laignel-Lavastine, comme spécifiques pour la démence sénile, sont considérés par Arias comme des produits provenant de la désintégration du tissu nerveux par l'action prolongée du formol fixateur.

Les recherches récentes ont essayé de résoudre la question de l'amyloïde et de montrer quelle est sa nature, quelles sont les conditions qui provoquent son apparition, sa manière de se comporter dans les tissus et de déterminer sous l'influence de quels facteurs il se dépose dans les tissus.

Pour Léopold, l'amyloïde dérive d'un mélange de colloïdes d'émulsion ou colloïdes hydrophiles. Il s'agit d'une substance colloïde dont la phase dispersée a été ramenée, par un changement encore inconnu du milieu de dispersion, de l'état de sol en état de gel. Léopold pense qu'il faut considérer l'amyloïde comme un colloïde spécial qui tient à la fois des colloïdes hydrophiles et des colloïdes hydrophobes, car une fois l'amyloïde constitué,

il n'est plus soluble ; la floculation est donc définitive comme pour les colloïdes hydrophobes.

Léopold admet que l'amyloïde ne circule pas tel quel, mais il se trouve dans un état de préamyloïde ; pour qu'il se dépose, il est nécessaire d'avoir la présence d'un ferment.

D'autre part, Letterer affirme que la molécule de préamyloïde qui est de grand volume prend naissance dans les tissus, traverse la paroi des capillaires, circule dans le sang et, traversant de nouveau les capillaires, revient dans les tissus.

Karczag, Pauntz et Nemeth croient que le hyalin est un dérivé d'une réaction *in situ* entre les antigènes et les anticorps, les premiers étant les protéines provenant des leucocytes morts et les seconds une substance spécifique produite par l'organisme.

Frank, étudiant une série de souris inoculées avec des bacilles encapsulés acidogènes, arrive à la conclusion que ce sont les substances protéiques étrangères issues de la dégradation des corps microbiens qui donnent naissance à l'amyloïde, et que l'acidogénèse joue un rôle adjuvant important dans la production de l'amyloïde, car l'amyloïde provient d'une substance protéique gonflée ; il est lié au changement de l'état physico-chimique des protéines. Comme le remarque M. Doubrow (1), le rôle de l'acidité du milieu (de la diminution du *p*H) est bien précisé pour les gonflements des colloïdes dans les travaux de M. Fischer.

Braunmühl (2), avec sa méthode argentique, a étudié ce qu'il appelle plaques primitives, dans la genèse desquelles ne prend part ni le tissu nerveux ni le tissu névroglique. Les plaques primitives sont représentées par des zones claires qui contrastent avec leur voisinage plus foncé. A l'immersion, on voit à leur intérieur des fibres délicates et des blocs argentophiles. Dans d'autres cas, l'argentophilie occupe la zone marginale. Enfin, avec une lumière favorable, on gagne l'impression qu'à l'intérieur de la plaque, il se trouve une substance amorphe.

Là où il y a des cellules nerveuses, celles-ci sont englobées dans la plaque et deviennent argentophiles, mais sans avoir aucun rapport avec la genèse de celle-ci. Les plaques mises en évidence par la méthode de l'argent ammoniacal donnent l'impression que le substratum de la plaque est représenté par le dépôt d'une substance inconnue dans la substance nerveuse fondamentale. Les

(1) Doubrow : « A propos de quelques travaux récents sur l'amyloïde. » (*Bulletin d'Histologie*, n° 4, avril 1926.)

(2) Braunmühl (A.-V.) : « Neue Gesichtspunkte zum Problem der senilen Plaques. » (*Zeitschr. f. d. ges. Neurol. u. Psychiatr.*, vol. 133, n^{os} 3-4.)

formes primitives des plaques sont rares et indépendantes des plaques proprement dites, des feutrages et des foyers de filaments, malgré qu'elles sont produites par le même agent. Dans les plaques primitives, il n'apparaît plus tard ni noyau ni couronne ; les autres plaques et les plaques primitives ne dérivent pas les unes des autres. Le noyau n'augmente pas ni n'apparaît plus s'il a été absent au moment de la naissance de la plaque ; ce n'est que l'augmentation de l'argentophilie qui est possible. La structure de la plaque ne dépend pas de ses dimensions, car, comme l'a montré Struve, il y a des plaques toutes petites pourvues de noyau, couronne, etc. Braunmühl, à son tour, croit pouvoir affirmer que la grandeur et la structure d'une plaque sont définitives. Il est sceptique en ce qui concerne les formes de passage.

Le dépôt de substance étrangère lèse le tissu fondamental, lésion à laquelle s'ajoute d'une manière secondaire un autre processus : désintégratif, névroglique, etc.

On voit en outre que les cellules nerveuses, névrogliques et les vaisseaux sont refoulés par ce dépôt. Au début, ce dépôt n'est pas trop argentophile, car pour la production de l'argentophilie intervient des interactions entre le tissu fondamental et le dépôt de substance. Voilà la raison pour laquelle, au moins dans les préparations argentiques, il est difficile de préciser l'étendue exacte occupée par le dépôt.

Dans les plaques primitives, l'argentophilie est plus marquée sur les bords.

Dans les plaques primitives jeunes, il n'y a pas trace de phénomènes désintégratifs et de réparation. Les plaques amicrogliques de Marinesco sont à ranger ici.

En résumé :

1° La forme et l'aspect de la plaque sont déterminées par l'espèce et la quantité du dépôt. Ces facteurs sont à la base, soit des plaques en sens restreint avec noyau, couronne, etc., soit des foyers fibrillaires, feutrages, plaques primitives.

2° L'aspect est régi en outre par la structure de la région où se fait le dépôt.

3° Les images argentophiles se forment non pas en même temps, mais par poussées. Les plaques apparues en même temps ont la même structure.

Dans ses recherches, l'auteur a imité le processus de précipitation qui se passe dans le cerveau sénile, et a obtenu des images qui ressemblent aux plaques séniles cérébrales.

Il a mis sur une lame une mince couche de ferro-cyanure de K à 10 % qu'il laisse un peu s'évaporer, et fait tomber de différents niveaux, à l'aide des pipettes de divers calibres, des gouttes de sulfate de cuivre à 10 %. Ces expériences sont de nature à montrer que les images analogues aux plaques séniles qu'il a obtenues ne s'accroissent pas petit à petit, mais qu'elles ont une structure définitive dès le moment même de la précipitation. L'expérience de Braunmühl montre, en outre, que la formation du noyau est primitive, la couronne et la zone claire étant secondaires.

On sait que la couronne des plaques de la substance blanche est elliptique et non pas circulaire comme dans la substance grise.

Braunmühl a mis un peu de ferrocyanure de K sur le fond d'une boîte de Petri et, avec un feutrage de plastiline, il y imite la disposition des fibres nerveuses. Dans ce cas, le précipité est sous forme d'un noyau avec couronne elliptique.

En variant l'angle d'incidence de la pipette, on peut obtenir des plaques variables d'aspect.

Ces constatations permettent à l'auteur d'affirmer que les plaques sont produites à la suite d'un phénomène de précipitation. Comme les auteurs qui l'ont précédé, Braunmühl avoue qu'on ne sait pas ni quelle est la substance qui précipite, ni comment elle précipite. Il fait cependant appel aux travaux de Ruzicka qui a montré que la substance vivante avec l'âge se condense (hystérèse), et par la suite les processus du métabolisme diminuent d'intensité. Les colloïdes en état métastabile deviennent stabiles, peu dispersés. Cette condensation entraîne une augmentation de l'énergie de surface. La floculation qui en résulte provient de la modification de la tension superficielle des membranes des particules de la phase dispersée qui se rapprochent l'une de l'autre. Si la vieillesse dépend également de l'hystérèse des colloïdes, alors il y a, à cet âge, une floculation plus intense dans les cellules et les tissus. Qu'il me soit permis d'ajouter que j'ai soutenu, avant M. Ruzicka, que le processus de la vieillesse est en rapport avec la déshydratation et la floculation des colloïdes (1).

Le cerveau sénile perd la propriété de maintenir en solution les déchets colloïdaux résultant du métabolisme vicié. Ces col-

(1) Mon premier travail sur le mécanisme colloïdal de la vieillesse a été publié dans les comptes rendus de l'Académie roumaine, en 1914.

Voir aussi Marinesco (G.) : « Etudes sur le mécanisme histochimique de la vieillesse et du rajeunissement » (*Behandl. des I. inter. Kingr. f. Sexualforschüng*, Berlin, 1927.)

loïdes précipités donnent naissance aux plaques séniles et aux corps amylacés.

L'hypothèse de M. Braunmühl mérite d'être prise en considération, car elle représente un progrès et incite à de nouvelles recherches.

On avait admis que, dans l'atrophie circonscrite de Pick, le nombre de plaques séniles était sinon nul, du moins très réduit. C'est ainsi que, dans un cas de cette affection, Altmann a trouvé de rares plaques qui se trouvaient en dehors de la région atrophiée.

Au contraire, le cas de Braunmühl concernant un vieillard, offre, dans les régions de l'écorce les plus atrophiées, des plaques séniles typiques et beaucoup de pigment ferrique dans les cellules adventitielles et les cellules névrogliques. Les cellules de Hortega qui bordent la plaque contiennent une quantité extraordinaire de pigment ferrique.

Les grands vaisseaux offrent des lésions d'artério-sclérose, les petits sont hyalinisés et leur endothélium est légèrement proliféré. Il y avait en outre des nécroses récentes ou anciennes en relation avec les vaisseaux.

Dans les cas de Pick, le fer siège surtout dans le parenchyme et moins au voisinage des vaisseaux provenant, probablement, de la myéline avec laquelle il est combiné (Mühlmann).

Braunmühl croit que la quantité de fer pourrait peut-être indiquer, jusqu'à un certain point, l'âge du sujet et la nature de la maladie.

Pour Timmer (1), le rôle de la microglie dans la genèse et l'évolution des plaques est considérable : « Dans le cerveau prennent naissance des produits toxiques. La microglie est mobilisée pour transformer et transporter ces produits. Elle commence par se tuméfier et se déplacer dans la direction des substances toxiques. Mais étant donné qu'ici il s'agit des cellules de microglie des sujets séniles, elles ne peuvent plus remplir leur fonction comme chez les sujets jeunes. La microglie reçoit ces produits toxiques, mais elle ne peut ni les transformer si rapidement, ni faire beaucoup de travail, et se détruit lentement. Une fois la microglie détruite, ses produits toxiques attirent d'autres cellules de microglie, de sorte que nous avons une plaque consistant en quelques cellules de microglie altérées entourées d'autres cellules nouvelles de microglie.

(1) Timmer (A.-P.) : « Der Anteil der Mikroglia und Macroglia am Anfbau der senilen Plaques. » (*Zeitschr., f. d. ges. Neur. u. Psych.*, vol. 98, n^{os} 1-2.)

Notre observation anatomo-clinique offre un double intérêt.

En effet, le diagnostic posé de sclérose en plaques, qui cadrait avec les symptômes et l'évolution de la maladie, s'imposait pour ainsi dire.

Il est évident, cependant, que la marche progressive de la maladie et sa durée assez longue, de même que la présence de troubles psychiques assez prononcés, nous obligeaient à faire quelques réserves. Néanmoins, les symptômes principaux de la sclérose en plaques classiques y existaient au complet.

D'autre part, en matière de symptomatologie, c'est la localisation qui joue le rôle principal; or, le système cérébelleux et les voies pyramidales étaient atteintes dans notre cas. Mais l'écorce cérébrale et cérébelleuse n'offrait pas de lésions. Nous avons vu que le segment postérieur de la capsule interne était littéralement bourré de plaques séniles.

Le nystagmus dissocié, pour l'explication duquel nous avons supposé une lésion du moteur oculaire commun, s'explique très bien par la lésion des faisceaux radiculaires du moteur oculaire commun du côté gauche, et la présence de quelques plaques dans le noyau du moteur oculaire commun.

Mais c'est surtout au point de vue de l'anatomie pathologique et de la physiologie pathologique que notre cas offre une importance considérable car les plaques séniles très nombreuses et de dimensions considérables, forment des conglomérats et souffrent la transformation amyloïde; mais, comme on l'a vu, il ne s'agit pas d'un amyloïde pur, car à l'amyloïde se sont ajoutés divers lipoïdes et parfois du calcium. Le rôle de la microglie est très important, car elle digère soit le hyaloïde de la couronne périphérique, ou attaque le noyau central en le morcelant pour le digérer ensuite.

D'autre part, la microglie contient beaucoup de granulations de fer et de lipoïdes colorés soit par le rouge écarlate, soit par le bleu de Nil.

Comme on vient de le voir, le fait dominant des plaques que nous venons de décrire n'est pas seulement leur siège et le rôle considérable que joue la microglie dans leur destruction, mais surtout leur contenu en amyloïde et leur biréfringence, souvent totale, coïncidant avec une amyloïdose des vaisseaux des régions atteintes, existant aussi dans des viscères (reins, foie et rate). Dans de pareilles conditions, le problème qui se pose intéresse non seulement la genèse des plaques dites séniles, mais l'apparition de l'amyloïde dans le cerveau et dans les organes. Il est

bien connu que l'amylose se rencontre au cours de certaines suppurations prolongées, et après l'injection de térébenthine. Or, notre malade n'a pas présenté de suppurations, ni des signes de tuberculose pendant sa vie.

Les recherches expérimentales entreprises dans ces dernières années ont jeté une certaine lumière sur la production de l'amylose. Un fait principal, constaté par Hansen, c'est que les organes amyloïdes sont beaucoup plus riches en acide chondroïtine-sulfurique que les organes normaux. Cet acide, tout en étant étranger à l'amyloïde même, est une substance dont la présence est nécessaire pour qu'un dépôt d'amyloïde puisse se faire dans un organe.

Cette idée est corroborée par les expériences de Léopold : sur cinq lapins, chez lesquels l'auteur a cherché de produire l'amyloïde en entretenant chez eux des suppurations chroniques, un seulement a présenté de l'amyloïde. Par contre, dans une autre série d'expériences, sur six lapins soumis au même traitement, mais ayant reçu une nourriture abondante en soufre, quatre ont présenté une amylose typique. De même, lorsqu'on soumet *in vitro* un organe à l'autolyse, on ne trouve à aucune phase de dégradation de produit donnant la réaction de l'amyloïde; mais si on fait cette opération dans un milieu additionné d'acide sulfurique, on obtient un corps qui donne, avec l'iode, une réaction typique.

Jusqu'alors, l'amyloïde provoqué n'était dû qu'aux suppurations obtenues avec les cultures microbiennes, ou aseptiquement avec l'essence de térébenthine.

LÉGENDES DES PLANCHES

Fig. 1 *bis*. — Coupe transversale du pédoncule traitée par la méthode du bleu de Turnbull. On y voit une désintégration considérable du fer au niveau du noyau rouge, de la substance noire du pédoncule.
La désintégration est plus marquée au niveau de la subsance noire du côté droit.

Fig. 2. — Topographie des plaques dans le pédoncule et le noyau rouge.

Fig. 5. — Plaque de la capsule interne offrant la réaction des lipoïdes.

Fig. 6. — Méthode de Best pour le glycogène. Plaque offrant des granules de glycogène dans certaines cellules de microglie.

Fig. 7. — Plaques traitées au lugol.

Fig. 12 *bis*. — Image macroscopique du foie.

Fig. 13. — Plaque dont la couronne offre des cellules de microglie donnant la réaction du fer.

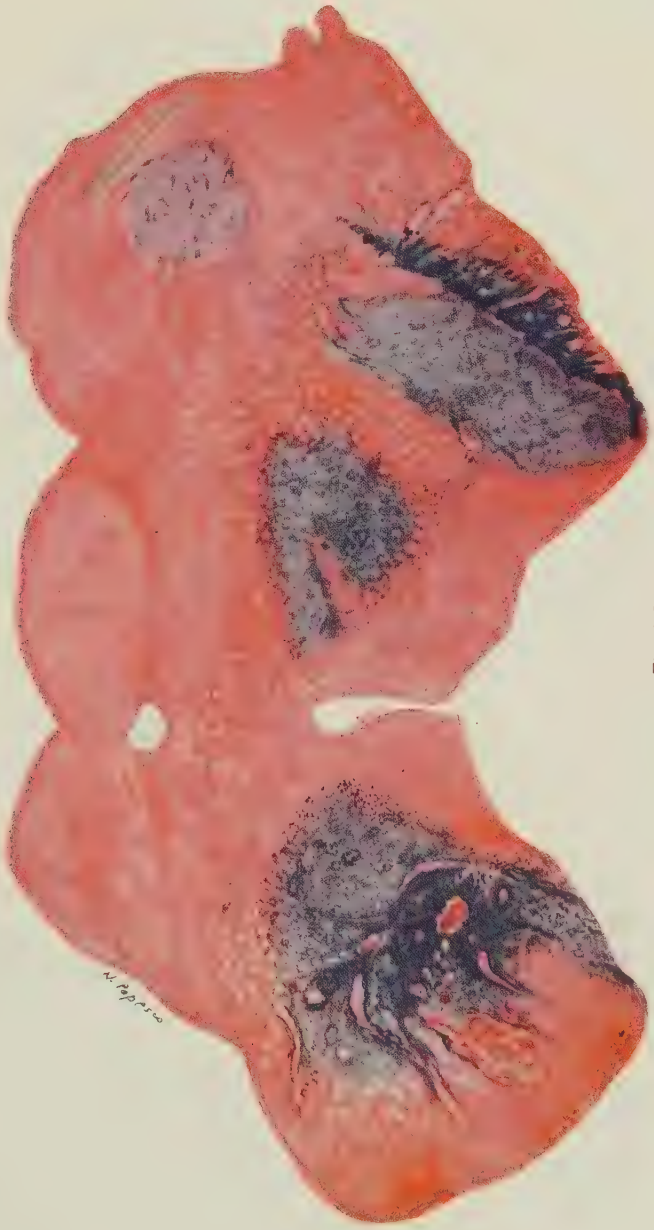


Fig. 1 *bis*

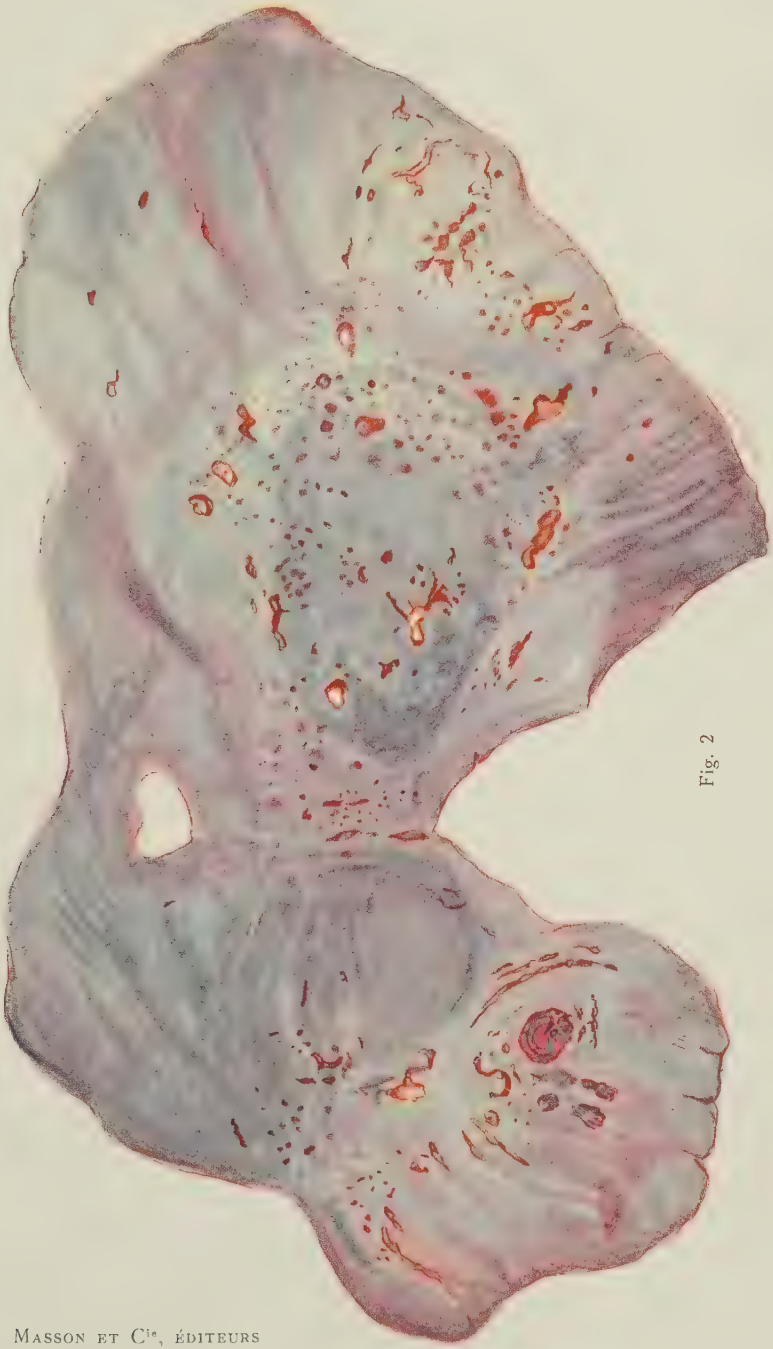


Fig. 2

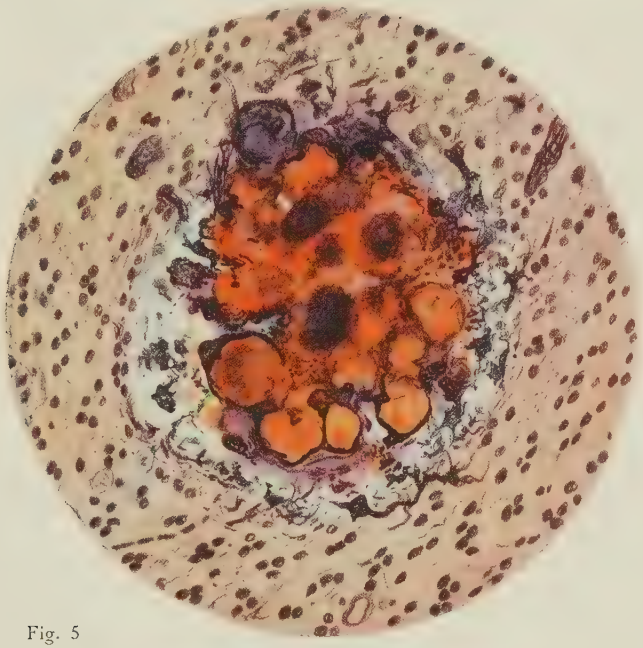


Fig. 5

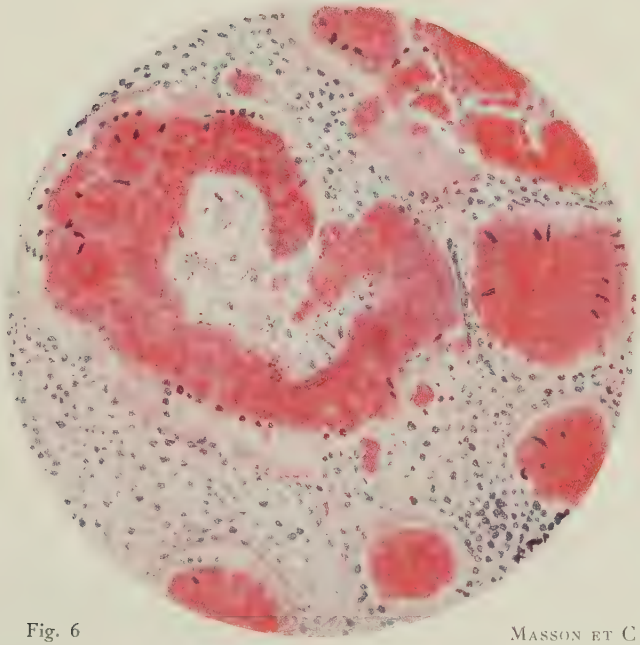


Fig. 6

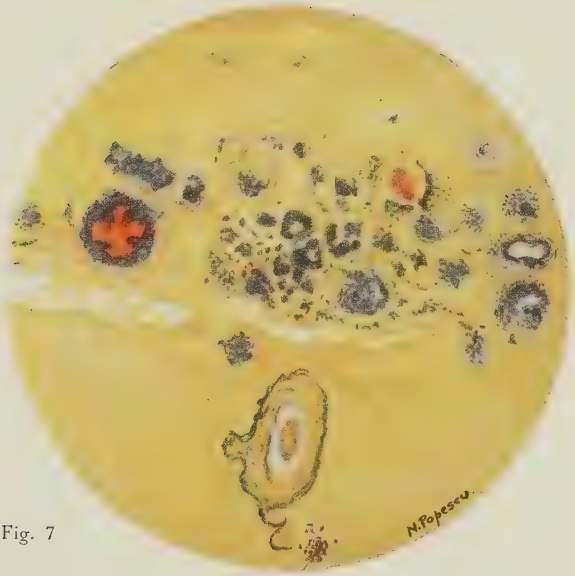


Fig. 7

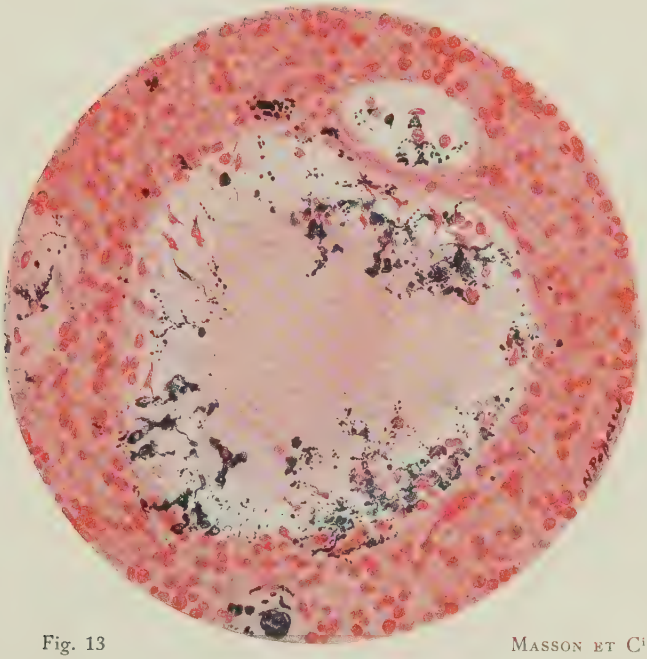


Fig. 13

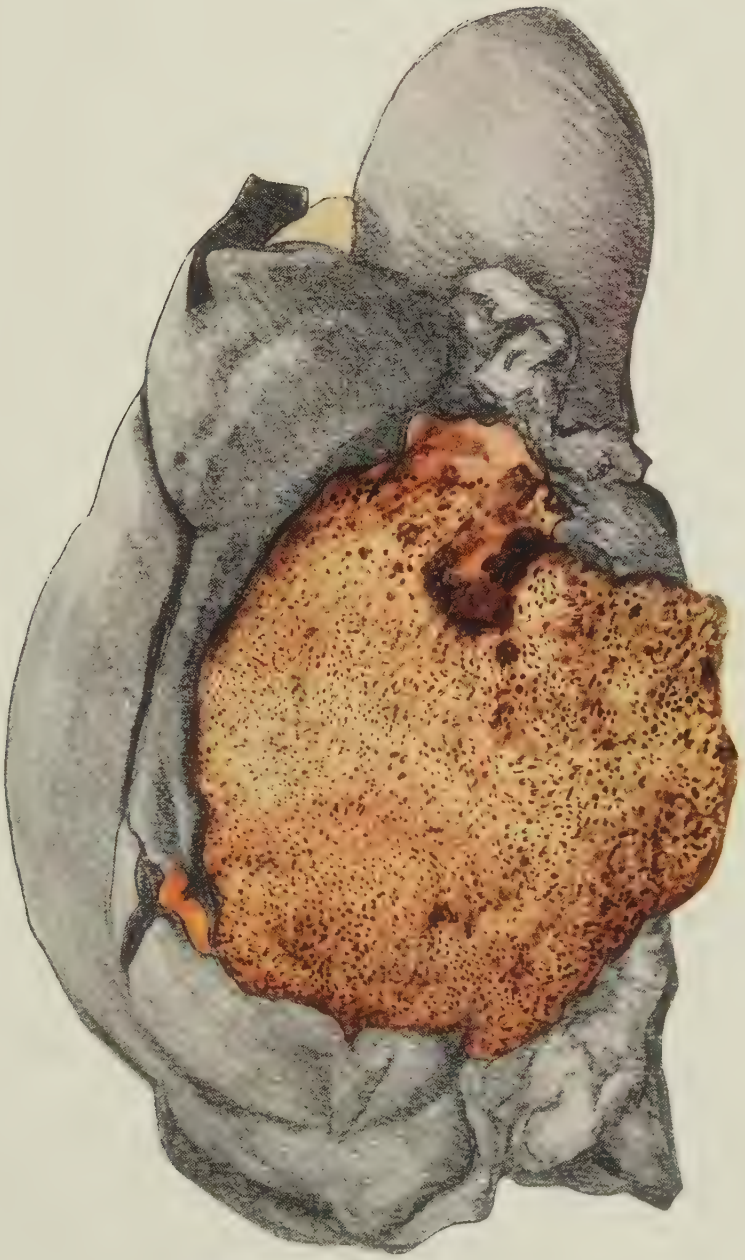


Fig. 12 *bis*

MASSON ET Cie, ÉDITEURS

Au cours de ses recherches sur l'histopathologie du métabolisme des produits quaternaires chez les mammifères, Kuczynsky (1) a pu constater que l'alimentation par la caséine fermentée provoquait, chez la souris, une amylose plus ou moins généralisée. Cet état est encore plus facilement réalisable lorsqu'on introduit l'albumine ou les polypeptides issues de sa dégradation par la voie parentérale. La méthode, confirmée depuis par de nombreux auteurs, semble très sûre.

L'amyloïde se dépose toujours dans la substance fondamentale conjonctive. Elle n'est jamais intracellulaire. Kuczynsky ne croit pas que la précipitation de l'amyloïde se fasse sous l'action des ferments élaborés par les cellules, comme c'est le cas de la fibrine. Même une action indirecte, à distance d'une hormone, ne lui semble pas une hypothèse plausible.

Un problème biochimique de grande importance, c'est de savoir pourquoi, dans certains cas, les plaques ne contiennent pas d'amyloïde; dans d'autres, certains noyaux offrent la réaction de l'amyloïde sans être toujours biréfringents, tandis que, dans notre cas, presque toutes les plaques donnent la réaction de l'amyloïde; même cet amyloïde se comporte d'une façon positive à l'action du lugol, et nous observons des métachromasies très intenses et caractéristiques.

Faut-il invoquer, pour expliquer cette différence, la présence des éthéro-sulfates qui modifieraient l'état colloïdal des plaques, chez notre malade, et l'absence de ces substances en cas de plaques n'offrant pas les réactions de l'amyloïde? C'est là une question à laquelle nous ne pouvons pas répondre.

Je croirais que, dans la maladie d'Alzheimer, tout au moins la plupart des plaques donnent la réaction de l'amyloïde, tandis que celles de date récente n'offrent pas de pareilles réactions.

En tout cas, le moment est arrivé d'envisager, dans les cas où l'on suppose la présence des plaques séniles ou en cas de maladie d'Alzheimer, de faire appel à l'épreuve de Pauntz qui consiste à injecter dans la veine du rouge de Congo; lorsqu'il existe un foyer de dégénérescence amyloïde, le colorant disparaît en une heure du sang circulant, fixé par les tissus dégénérés.

---

(1) Cité par Doubrow, *loc. cit.*

VACCINATIONS PAR LE B. C. G. EN ROUMANIE

par

J. CANTACUZÈNE, M. NASTA et T. VEBER

I

INTRODUCTION

Dans un mémoire publié voici deux ans dans ces *Archives* (1), nous indiquions les résultats des vaccinations par le B. C. G. obtenus en Roumanie jusqu'au 1er juillet 1929.

Dans le présent travail, nous apportons les résultats statistiques réunis depuis cette date jusqu'au 31 décembre 1930.

En juillet 1929, le nombre total des enfants vaccinés en Roumanie dépassait 30.000 ; celui des revaccinés atteignait 5370. Nos statistiques avaient été établies sur 17.535 observations d'enfants vaccinés en tenant compte de la méthode des « Life tables ». Nous notions, dès cette époque, l'innocuité parfaite du vaccin aussi bien chez l'homme que chez les animaux de laboratoire, l'absence de l'exaltation de la virulence ainsi que l'absence, lors de la revaccination, d'accidents quelconques capables de troubler la santé générale.

De même que partout ailleurs, nous constations l'influence exercée par la vaccination sur la mortalité générale qui, chez les vaccinés, est, selon les régions considérées, de 2, 3 et parfois 4 fois inférieure à celle des non vaccinés. Quant à l'action prémunisante de la vaccination chez les enfants nés en milieu bacillifère et non isolés après leur naissance, nous établissions que : alors que cette léthalité est de 25 % chez les enfants non vaccinés, elle tombe chez les vaccinés à 1,3 % pour les cas de tuberculose confirmée, ou à 2,3 % si au cas de tuberculose confirmée on

(1) Cantacuzène (J.), Ciuca (M.), Nasta (M.), Veber (T.) et Alexa (I.) : *Arch. roum. de Path. expér. et de Microb.*, t. II, nos 2-3, 1929, p. 131.

ajoute ceux (douteux comme diagnostic) que nous désignons sous le nom de tuberculose « possible ».

De cette première série d'observations se dégageait, d'une façon éclatante, la valeur prémunisante de la méthode de vaccination contre l'infection tuberculeuse chez les nouveau-nés, ainsi que son action (difficile à interpréter jusqu'ici) sur l'abaissement de la mortalité générale.

A l'époque où fut publié ce premier mémoire, la vaccination se pratiquait d'une façon systématique dans 24 villes de Roumanie (grandes et petites) sans compter la capitale. Depuis, le nombre des enfants vaccinés s'est accru considérablement, ainsi que celui des villes ou des communes rurales où la vaccination se pratique d'une façon régulière.

Dans un rapport présenté au Congrès d'Oslo (1), nous montrions qu'aux 24 villes citées dans notre mémoire de 1929 étaient venus s'ajouter 13 nouveaux centres importants, ce qui portait à 37 le nombre total des villes où se pratiquait la méthode. Nous indiquions également dans ce rapport que la pratique de la vaccination commençait à s'étendre aux milieux ruraux et que, dans deux départements (Ilfov et Trei Scaune), on vaccinait les enfants dans un très grand nombre de communes rurales; nous signalions également le fait (communiqué par le docteur Laugier) que, pour les enfants nés à Craiova en 1927, la mortalité générale avait été au cours de la première année de la vie de 15,85 % chez les non-vaccinés et de 7,22 % chez les vaccinés ; que, dans ce même groupe d'enfants, elle avait été, au cours de la seconde année de la vie (1928), de 8,37 chez les non-vaccinés et de 5,67 % chez les vaccinés; et qu'enfin au cours de la troisième année, ce même groupe d'enfants avait fourni une mortalité générale de 4,6 % chez les non-vaccinés et de 1,5 % chez les vaccinés. Cette dernière constatation prouve que, en ce qui concerne la mortalité générale, le bénéfice de la vaccination continue à se faire sentir bien au delà de la fin de la première année de la vie, constatation qui n'a fait qu'être confirmée par les observations ultérieures (voir plus loin).

A la fin de l'année 1930, le nombre total des vaccinés dépassait 70.000 ; celui des revaccinés une et deux fois était de 17.640. A ce

(1) Oslo : 7e *Conférence de l'Union internationale contre la tuberculose*, 13, 14, 15 août 1930.

Co-rapport par J. Cantacuzène : *Résultats des vaccinations des nouveau-nés contre la tuberculose, par la méthode Calmette-Guérin, effectuées en Roumanie.*

moment, 48 villes d'importance diverse pratiquaient la vaccination systématique de leurs nouveau-nés (1) ; de plus, l'extension progressive de la méthode continue à s'accentuer dans les campagnes : 4 départements (Ilfov, Ialomitza, Brasov, Trei Scaune) pratiquaient la vaccination dans un très grand nombre de leurs communes ; dans trois autres (Durostor, Cetatea Alba, Ismail), les vaccinations étaient limitées à un nombre restreint de localités.

D'une façon générale, le nombre de familles qui refusent la vaccination a toujours été très faible. Et le chiffre des refus varie généralement, selon les localités, entre 2 et 5 %.

Cependant, il est bon de noter que la proportion des refus continue, comme par le passé, à être bien plus élevée dans ceux des centres appartenant aux provinces nouvellement récupérées, où prédomine une population d'origine allemande, ce qui s'explique en partie par le fait qu'un certain nombre des médecins qui pratiquent dans ces centres sont issus de l'école de Vienne et se trouvent encore sous l'influence des doctrines de von Pirquet et de ses collaborateurs. Il est juste de noter néanmoins que ce préjugé a une tendance visible à s'atténuer. La ville de Timişoara, centre de la résistance, nous fournit une proportion de 10 % de refus aux revaccinations et une proportion plus forte encore à la primo-vaccination.

Il est certain que les accidents survenus à Lübeck ont exercé pendant un temps assez long une influence manifeste sur ces hésitations. Ces accidents, exploités par certains médecins praticiens, ont détourné de la vaccination tout particulièrement la population israélite de certaines villes du nord de la Moldavie, où cette population est abondamment représentée; c'est ainsi que, dans la ville de Botoşani, la proportion des refus, très faible dans la population de religion orthodoxe, s'est élevée à plus de 20 %, pour l'année 1930, chez les habitants de religion mosaïque; mais là aussi cette impression injustifiée tend aujourd'hui à s'atténuer considérablement.

Si le nombre de refus est généralement faible et ne dépasse

(1) Ce sont les villes de : Bucarest, Cernăuţi, Botoşani, Iaşi, Chişinău, Pascani, Bacău, Tecuci, Bârlad, Focşani, Galatzi, Braila, Reni-Ismail, Saba-Târg, Tulcea, Ploeşti, Slobozia, Urziceni, Călăraşi, Silistra, Oltenita, Filipeşti-Târg, Târgovişte, Câmpulung-Muscel, Piteşti, Slatina, Caracal, Alexandria, Craiova, Turnu-Severin, Reşiţa, Timişoara, Arad, Deva, Simeria, Petroşani, Lupeni, Brasov, Sfântul-Gheorghe, Covasna, Târgul Secuiesc, Târgul-Mureş, Reghinul Săsesc, Cluj, Drăgăşani, Călimăneşti, Azuga-Buşteni, Bairamcea.

guère, comme il est dit plus haut, la proportion de 2 à 5 %, il ne faut pas en conclure que le reste des nouveau-nés soient tous soumis à la vaccination préventive ; pour des motifs divers (fausses adresses, déclarations faites en retard à l'Office de l'état civil, déplacements, manque de conscience chez un grand nombre des sages-femmes), bon nombre d'enfants échappent à la vaccination même dans les centres où cette vaccination devrait s'appliquer méthodiquement à la totalité des nouveau-nés; si bien que la proportion réelle du nombre des vaccinations, dans les 48 villes que nous avons citées plus haut, varie considérablement de l'une à l'autre. Ajoutons que la personnalité du médecin préposé à la police sanitaire de la ville influe considérablement sur le succès de la méthode.

Le tableau suivant, qui donne la proportion des enfants vaccinés sur la totalité des naissances, permet de se rendre compte de l'importance des résultats obtenus en 1930.

NOM DES LOCALITÉS	PROPORTION DES VACCINÉS SUR LA TOTALITÉ DES NAISSANCES
Pitești	91 %
Târgoviște	90 —
Călărași	89 —
Filipești-Prahova	78 —
Craiova	73 —
Botoșani	70 —
Arad	70 —
Petroșani	70 —
Bucarest	70 —
Turnu Severin	67 —
Iași	66 —
Giurgiu	58 —
Tulcea	55,8 —
Caracal	51,2 —
Silistra	50,8 —
Chișinău	50 —
Timișoara	35 —
Cernăuți	30 —

Le tableau précédent est loin de comprendre la totalité des villes où se pratique la vaccination. L'on doit admettre aujourd'hui que, dans l'ensemble de ces divers centres, le chiffre de 60,5 % représente, sur la totalité des naissances, la moyenne de ceux qui ont été soumis à la vaccination antituberculeuse.

L'une des meilleures preuves de la confiance croissante du public à l'égard de la méthode de prémunition par le B. C. G., est le nombre de plus en plus grand de personnes qui, ayant refusé la vaccination, viennent maintenant s'adresser à notre Institut pour demander à réparer leur négligence initiale.

II

INNOCUITÉ DE LA VACCINATION PAR LE B. C. G. INFLUENCE DE LA VACCINATION SUR LA MORTALITÉ GÉNÉRALE. — ALLERGIE

L'expérience de ces deux dernières années a continué à démontrer la parfaite innocuité de la vaccination par le B. C. G. Aucun accident de quelque importance ne nous a été signalé.

a) *Symptomatologie clinique de l'imprégnation par le B. C. G.* Nous n'avons pas grand'chose à ajouter aux constatations faites dans notre dernier mémoire (1). Les praticiens ont signalé à plusieurs reprises des éruptions généralisées à très petites vésicules, survenant vingt-quatre ou quarante-huit heures après l'ingestion du vaccin et qui guérissent rapidement sans complications. Ce sont là d'ailleurs des cas exceptionnels.

Il arrive assez souvent qu'une à deux semaines après l'ingestion du vaccin, on constate un léger engorgement ganglionnaire, particulièrement dans les régions cervicale et sous-maxillaire, beaucoup plus rarement dans les régions inguinale et axillaire. Cette polyadénite s'accompagne parfois d'un très léger mouvement fébrile, ne dépassant pas 37,8°; elle ne tarde pas à se résorber et, généralement, au bout d'un mois toute trace d'engorgement ganglionnaire a disparu. A aucun moment, au cours de ce processus, la santé générale de l'enfant n'est atteinte. Le fait n'en reste pas moins intéressant, en ce qu'il indique, une fois de plus, que l'ingestion du B. C. G. donne lieu à une imprégnation générale du système lymphatique. Cette même polyadénite s'observe, plus fréquemment même, à la suite de la revaccination; elle disparaît sans laisser de traces; là aussi ce léger engorgement ganglionnaire s'accompagne d'une faible élévation de température qui ne touche en rien la santé générale.

De cette dernière constatation, on peut également conclure que la muqueuse intestinale de l'enfant reste perméable au B. C. G. au cours de la deuxième ou de la troisième année de la vie, à condition toutefois que le vaccin soit administré à jeun.

(1) *Arch. roum. de Médec. expér. et de Microb.*, loc. cit.

On a signalé parfois, à la suite de la vaccination, de légères poussées d'entérite vite guéries ; là aussi les cas sont exceptionnels. Certains sujets semblent présenter à cet égard une idiosynchrasie particulière. C'est ainsi que l'enfant d'un médecin présenta le soir même qui suivit la vaccination une fièvre de 40° accompagnée de diarrhée. Ce syndrome dura plusieurs jours en s'atténuant progressivement, ce qui n'empêcha pas le père de lui administrer la deuxième et la troisième dose. La fièvre et la diarrhée disparurent trois jours après la dernière prise. Revacciné au bout d'un an, l'enfant présenta la même série de phénomènes, moins accentués cependant. La convalescence fut de très courte durée, l'état général de l'enfant étant florissant.

L'action eutrophique de la vaccination est devenue aujourd'hui, en Roumanie, un fait d'observation générale signalée non seulement par les médecins, mais par les parents eux-mêmes. Nous possédons de nombreuses observations d'où il résulte que, parmi les enfants élevés dans des conditions d'hygiène et d'alimentation mauvaises, ceux qui ont été soumis à l'imprégnation par le B. C. G. présentent un état de santé particulièrement florissant.

L'étude systématique de la courbe du poids confirme cette manière de voir. Dans un rapport présenté par MM. Athanasiu (G.), Barbulesco (I.) et Ionesco (G.) au premier Congrès national de la Tuberculose, tenu à Bucarest en juin 1931, les auteurs montrent que, parmi la population rurale du district d'Ilfov, le poids moyen, qui est le même à la naissance pour les vaccinés et les non-vaccinés, est à l'âge de six mois de 6000 grammes chez les non-vaccinés et de 6921 grammes chez l'ensemble des vaccinés; à l'âge de douze mois, cette moyenne est de 9000 chez les premiers et de 9220 grammes chez les seconds.

b) *Influence de la vaccination par le B. C. G. sur la mortalité générale.*

La diminution de la mortalité générale chez les vaccinés, vis-à-vis de toutes espèces de causes de décès, est aujourd'hui un fait universellement reconnu. Dans notre mémoire de 1929, nous en donnions de nombreux exemples pour la Roumanie. Des constatations de même ordre ont été faites depuis; le tableau suivant met le phénomène en évidence, pour l'année 1930, chez les enfants de zéro à douze mois.

LOCALITÉS	MORTALITÉ GÉNÉRALE	
	Chez les non vaccinés	Chez les vaccinés
Silistra	20 %	7,3 %
Arad	23,4 —	6,5 —
Bârlad	21 —	8 —
Brasov	15 —	4,7 —
Călărași	22 —	7,8 —
Filipești	18 —	4 —
Focșani	22,5 —	9,46 —
Tulcea	25 —	9,8 —
Caracal	17 —	9,76 —
Târgu-Mureș	22,6 —	8,7 —
Târgoviște	16,6 —	11 —
Botoșani	18,1 —	8,2 —
Bucarest	18 —	8 —
Petroșani	24 —	11 —
Iași	25 —	14,4 —

Comme on le voit, l'accroissement de la résistance générale chez les vaccinés ne peut plus souffrir aucune discussion ; quant à l'interprétation physiologique du fait, elle est encore des plus obscures. Il ne s'agit point là d'une immunité spécifique, le fait est évident, mais bien plutôt d'une activation générale de l'ensemble des processus vitaux; l'action eutrophique, signalée plus haut, en est un cas particulier.

Les intéressantes observations de M. Nasta et A. Weinberg (1) nous montrent que les animaux dont l'organisme a été préalablement imprégné par plusieurs injections consécutives de B. C. G. ont acquis, par-là même, une aptitude particulière à élaborer des anticorps spécifiques vis-à-vis de toute une série d'autres antigènes. C'est ainsi que des lapins vaccinés par le B. C. G., puis soumis à des inoculations successives de globules rouges de mouton, acquéraient un sérum présentant un titre hémolytique infiniment plus élevé que celui des lapins non vaccinés et traités de la même manière ; il en est de même pour les lapins immunisés contre le vibrion cholérique : le titre agglutinant des animaux préalablement vaccinés par le B. C. G. était infiniment plus élevé que celui des témoins. La même observation s'applique au titre précipitant des lapins traités par les injections successives de sérum de cheval.

Il serait imprudent de tenter actuellement une interprétation quelconque de ce curieux phénomène. Ce que nous pouvons dès

(1) Nasta (M.) et Weinberg (A.) : « Sur la production d'anticorps pour différents antigènes chez les lapins vaccinés avec le B. C. G. » (*C. R. Soc. de Biol.*, t. CVI, février 1931, p. 992.)

maintenant affirmer, c'est que le bénéfice ainsi conféré à l'organisme se prolonge bien au delà de la première année de la vie. Dans notre rapport d'Oslo, nous signalions les observations du docteur Laugier, de Craiova, sur deux groupes d'enfants, les uns vaccinés, les autres pas, et suivis pendant les trois premières années de la vie : chez les enfants nés en 1927, la mortalité générale avait été, de zéro à douze mois, de 7,22 % chez les vaccinés et de 15,8 % chez les non-vaccinés; chez ces mêmes enfants, la mortalité générale a été, au cours de la deuxième année de la vie, de 5,67 % chez les vaccinés et de 8,37 % chez les non-vaccinés, et enfin, au cours de la troisième année de la vie (1929), la mortalité générale a été de 1,5 % chez les vaccinés et de 4,6 % chez les non-vaccinés.

Il est évident que, dans ce cas, il existe réellement une relation de cause à effet entre la vaccination et la résistance non spécifique. Ce même fait est confirmé par des observations semblables recueillies dans diverses villes de Roumanie, ainsi que le montre le tableau suivant :

LOCALITÉS	MORTALITÉ GÉNÉRALE			
	Chez les non vaccinés		Chez les vaccinés	
	1re année	2e année	1re année	2e année
Botoșani	18 %	2 %	8,2 %	0,17 %
Reșița	31,4 —	3,70 —	8,82 —	1,50 —
Tulcea	25 —	5 —	9,8 —	0,6 —
Bucarest	18 —	4 —	8 —	1,4 —

Des observations recueillies dans un certain nombre de villes roumaines, on peut tirer quelques déductions intéressantes relativement à la rapidité avec laquelle s'établit, après l'ingestion du vaccin, l'immunité non spécifique. Il suffit pour cela de comparer la mortalité générale des enfants vaccinés et non vaccinés au cours du premier mois de la vie. C'est ainsi que, pour l'année 1930, la mortalité générale chez les enfants, de zéro à un mois, a été :

A Focsani, de 11,4 °/₀ chez les non vaccinés, et de 3,3 °/₀ chez les vaccinés ;
A Tulcea, de 11,6 °/₀ — — — 4 °/₀ — —
A Târgu Mures, 14 °/₀ — — — 4 °/₀ — —
A Resita, de 7,58 °/₀ — — — 4,15 °/₀ — —

La première notion qui se dégage des précédentes constatations est que, dès le premier mois de la vie, le nouveau-né tire de la vaccination par le B. C. G. un bénéfice manifeste vis-à-vis des

diverses causes de décès. Comme on le voit, ces données ne correspondent pas à celles qui ont été fournies par le professeur Petrof, de Sofia, et que A. Calmette a citées dans son mémoire de la *Revue de la Tuberculose* (1); le professeur Petrof donne, en effet, pour la mortalité du premier mois en Bulgarie, le chiffre de 5,3 % chez les non-vaccinés et de 5,1 % chez les vaccinés, différence à peu près nulle comme on le voit. Il n'en est pas de même dans le milieu roumain; les données recueillies en Roumanie par les médecins les plus divers, et dans des localités très éloignées les unes des autres, indiquent toutes un abaissement considérable de la mortalité générale chez les enfants vaccinés âgés de moins de quatre semaines. On pourrait nous objecter que, lors de la vaccination, il se fait une première sélection et que les débiles destinés à mourir dès les premiers jours de la vie étant exceptés, on introduit par là une cause d'erreur dans la statistique. Or, le chiffre de ces débiles qui meurent dans les cinq premiers jours de la vie varie selon les villes entre 2 à 3 % (2,12 % à Ploesti, 2,6 % à Târgu Mureș), chiffres qui, retranchés de celui qui exprime la mortalité chez les non-vaccinés, laissent subsister une différence considérable entre les enfants qui ont subi ou non l'imprégnation par le B. C. G.

Nous admettons par conséquent comme démontré que, dans les conditions où l'on peut observer en Roumanie, les enfants vaccinés meurent au cours des premières semaines dans une proportion infiniment moins grande que les autres. Or, comme il faut un intervalle de temps supérieur à un mois pour l'établissement de l'allergie spécifique chez les vaccinés et que l'apparition de l'immunité spécifique demande elle aussi un temps supérieur à quatre semaines, nous concluons des données précédentes que la résistance conférée au cours de ce mois, par la vaccination, est de nature non spécifique et que, dans l'action antigénique que le B. C. G. exerce sur l'organisme, il faut nettement distinguer un élément spécifique (celui qui prémunise les enfants contre l'action pathogène du bacille de Koch), et un élément non spécifique dont le mode d'action s'exerce d'une façon très différente.

Nous tenons à rappeler une fois de plus que, parmi les causes de décès (en dehors de l'infection tuberculeuse) qui bénéficient de l'action protectrice du B. C. G., il faut mettre en première ligne les broncho-pneumonies et les maladies classées sous la

(1) Calmette (A.) : *Revue de la Tuberculose*, t. XI, 1930, p. 1021.

dénomination un peu vague de débilité congénitale. Or, il importe de ne pas oublier que l'infection latente par le bacille de Koch joue un rôle certain dans bien des broncho-pneumonies de la première ou de la seconde enfance, et que, d'autre part, nous ignorons si, dans bien des cas de « débilité congénitale », l'ultravirus tuberculeux ne jouerait pas un rôle étiologique : l'on peut se demander, en effet, si parfois ce syndrome mal défini ne représenterait pas simplement une forme prolongée chronique et plus ou moins fruste du syndrome de Couvelaire. S'il en était ainsi, il s'agirait là d'états pathologiques pour lesquels l'action favorable de la vaccination par le B. C. G. ne sortirait pas complètement du cadre d'une action spécifique.

c) *Quelques considérations relatives à l'allergie post-vaccinale.* Des observations récentes recueillies par M. Nasta et A. Weinberg (1), dans une crèche bucarestoise (crèche Sainte-Catherine) où les enfants sont reçus presque aussitôt après la naissance et gardés pendant plusieurs années, il résulte que l'ingestion de B. C. G. par voie buccale, chez des enfants âgés de plus d'un an (qu'il s'agisse de primo-vaccination ou de revaccination), détermine constamment des modifications de la formule leucocytaire sanguine dans le sens indiqué par les recherches de Pittaluga et Garcia sur les nouveau-nés (2).

Cette intéressante constatation démontre que la muqueuse intestinale demeure régulièrement perméable au B. C. G., au delà de la première année de la vie. Ce fait est doublement confirmé dans les recherches de M. Nasta et A. Weinberg par la constatation que la revaccination par voie buccale, après un an, détermine constamment l'apparition de l'allergie à l'intradermoréaction chez des enfants qui ne la présentaient pas ou qui l'avaient déjà perdue.

Une autre remarque résultant de l'observation des enfants élevés à la crèche, et par conséquent suffisamment isolés de tout contact tuberculeux, est que l'allergie, qui est à peu près la règle chez les enfants vaccinés au cours de la première année, devient moins fréquente et tend à disparaître au cours des années suivantes chez ceux qui continuent à vivre loin de tout contact infectant, alors que le contraire a lieu chez des enfants non soustraits à ce contact.

(1) Le travail *in extenso* de M. Nasta et A. Weinberg est publié dans ce même numéro des *Arch. roum. de Pathol. expér. et Microb.*

(2) Pittaluga (G.) et Garcia : *Ann. de l'Inst. Pasteur*, t. XLIII, n° 10, octobre 1929.

Il résulte enfin de cet ensemble d'expériences, l'acquisition d'une notion importante : à savoir que l'ingestion de B. C. G. par voie intestinale, effectuée chez les enfants en état d'allergie, ne présente pas d'inconvénients appréciables.

III

RÉSULTATS DES VACCINATIONS CHEZ LES ENFANTS NÉS ET ÉLEVÉS EN MILIEU BACILLIFÈRE

a) *Action prémunisante du vaccin.*

Nous avons toujours considéré que la meilleure démonstration de l'efficacité prémunisante du B. C. G. était fournie par les résultats obtenus chez les enfants nés et vivants en milieu bacillifère; c'est là en effet que l'on se rapproche le plus des conditions d'expérimentations au laboratoire. Notre mémoire publié en 1929 portait sur 1005 cas d'enfants nés en contact bacillifère, et donnait une proportion de 1,3 % de décès par tuberculose confirmée qui, ajoutée aux 0,8 % des cas de tuberculose « possible », donnait une léthalité maxima de 2,1 %.

Rappelons ici que la léthalité par tuberculose, chez les enfants âgés de moins d'un an et non vaccinés, est en Roumanie de 25 % en moyenne; quant aux chiffres de 1,3 % et de 2,1 % indiqués plus haut, ils ne représentent qu'une simple moyenne : il est en effet certains médecins qui, dans leur sphère d'observation, n'ont pu relever aucun cas de mort par tuberculose chez les enfants vaccinés.

Les résultats acquis depuis cette époque ne font que confirmer et préciser encore cette même constatation. Nous possédons aujourd'hui, depuis le début des vaccinations, 2180 observations d'enfants nés, élevés en milieu tuberculeux et non séparés après leur naissance de leurs parents malades. La proportion des morts par tuberculose certaine ou « possible » est sensiblement celle que nous indiquions dans le précédent travail ; de même qu'il y a deux ans, aujourd'hui également nous constatons de petites variations régionales allant de 0 % à 3,8 % en ce qui concerne les décès par tuberculose « possible ».

A Bucarest, où les enfants vaccinés sont suivis avec le plus grand soin par nos équipes de visiteuses, sur 402 cas de vaccinés

en milieu tuberculeux, il s'est produit 7 décès par tuberculose certaine au cours de la première année de la vie (soit une proportion de 1,74 %) et 4 décès de tuberculose « possible » (soit 1 %), ce qui donne une léthalité totale maxima de 2,7 %.

Dans le département d'Ilfov (capitale Bucarest), où la vaccination s'est généralisée à un très grand nombre de communes rurales, 230 enfants vaccinés et vivant en contact bacillifère ont donné, de zéro à douze mois, 3 décès par tuberculose, soit une léthalité de 1,3 %.

Voici maintenant un tableau indiquant cette léthalité dans différents centres de Roumanie.

LOCALITÉS	NOMBRE DE CAS	MORTALITÉ PAR TUBERCULOSE DE 0 A 12 MOIS	POURCENTAGE
Timişoara	68	2	2,9 %
Piteşti	26	1	3,8 —
Bârlad	119	0	0 —
Târgovişte	88	0	0 —
Iaşi	125	2	1,8 —
Reşiţa	55	0	0 —
Focşani	24	0	0 —
Slatina	19	0	0 —
Cetatea Albă	17	0	0 —

Ces chiffres sont éloquents; ils ont été soigneusement triés et n'ont pas besoin de commentaires pour démontrer, s'il en était besoin encore, la souveraine efficacité de la méthode.

Notons d'autre part que, sur les 2181 cas qui constituent notre statistique, nous n'avons eu que deux cas de mort par tuberculose au cours de la deuxième année de la vie : l'un à Bucarest, l'autre à Timişoara.

L'étude des enfants vivant en contact tuberculeux nous apporte un certain nombre de renseignements intéressants relativement à la mortalité générale de ces enfants vis-à-vis de toutes les causes de décès prises ensemble. Rappelons (voir plus haut) que la mortalité générale à Bucarest, de zéro à douze mois, est de 18 % chez les non-vaccinés et de 8 % chez les vaccinés. Cette même mortalité, chez les enfants vaccinés vivant en contact bacillifère, est de 15,8 % pour la première année de la vie, de 4 % pour la seconde année et de 0,25 % pour la troisième; quant à la mortalité générale chez les enfants ne vivant pas en contact bacillifère connu, elle est, au cours de la seconde année de la vie, de 4 % chez les non-vaccinés et de 1,4 % chez les vaccinés.

Il est intéressant de noter que, parmi ces familles de bacilli-

fères, la mortalité générale est différente selon que la bacillose a atteint la mère, ou le père seul, ou bien les deux parents à la fois, ou bien encore les collatéraux vivant sous le même toit. On verra alors que la mortalité générale, chez les enfants vivant dans ces conditions, est de 33,8 % lorsque la mère seule est tuberculeuse; de 12 % lorsque le père est tuberculeux; de 43,7 % lorsque la tuberculose frappe les deux parents, et de 10,5 % lorsqu'elle frappe les collatéraux vivant dans la famille.

Dans l'interprétation de ce fait entre certainement un facteur d'ordre psychologique (négligence plus grande du parent malade vis-à-vis de l'enfant); mais il y a vraisemblablement aussi un facteur d'ordre pathologique (contact plus intime entre la mère et l'enfant, surinfections multiples lorsque les deux parents sont malades).

Voir le tableau suivant :

Enfants nés et vivant en contact tuberculeux et vaccinés au B. C. G., à Bucarest, depuis mars 1926 jusqu'au 31 décembre 1930.

CONTACT	VACCINÉS	MORTS PAR DIFFÉRENTES CAUSES DE DÉCÈS				
		Nombre total	Pourcentage	1re année	2e année	3e année
En contact de la mère tuberculeuse	136	45	33,08			
En contact du père tuberculeux.	134	16	12			
En contact des deux parents à la fois	16	7	43,7			
En contact avec des collatéraux.	116	13	10,5			
Total	402	81	20,15	63	17	1
		Pourcentage		15,7	4,2	0,25

b) *Etude radiographique du processus infectieux chez les enfants vaccinés vivant en milieu bacillifère.*

Rien n'est plus instructif que de suivre, par les méthodes radiographiques, l'évolution de l'infection pulmonaire tuberculeuse chez les enfants vaccinés.

Le professeur Sayé, de Barcelone (1), avait montré par une série d'études radiographiques combien, chez les enfants vivant en milieu non bacillifère, les réactions adéno-trachéo-bronchiques

(1) Sayé (L.) : « Sur la vaccination antituberculeuse avec le B. C. G. » (*Revue de la Tuberculose*, t. X, n° 6, 1929, p. 781.)

Id. : *Co-rapport à la 7e Conférence de l'Union internationale contre la tuberculose*, Oslo, 1930, p. 11.

sont rares chez les vaccinés et fréquentes chez les non-vaccinés; d'autre part, il signale le fait que, « chez presque tous les enfants vaccinés, quel que soit le milieu, contaminé ou non, on observe une image radiographique du thorax caractérisée par de petits nodules situés dans la région médiastinale, spécialement bronchiale inférieure droite, quelquefois accompagnée d'ombres discrètes et plus rarement de phénomènes exsudatifs de la séreuse scissurale immédiate.

« Cette image, nous l'avons observée au cours de la première année, plus nettement dans la seconde ; elle disparaît dans la grande majorité des cas au cours de la troisième et de la quatrième année. »

Plus loin, en parlant de la calcification des ganglions intra-thoraciques, chez les enfants vaccinés, le même auteur déclare qu'il considère cette calcification comme le reliquat d'une infection tuberculeuse virulente chez le vacciné; l'infection par le B. C. G. ne donnant jamais par elle-même lieu à des processus de calcification.

Deux études faites en Roumanie, et dues l'une au professeur Manicatide, en collaboration avec M. Zavergiu-Theodoru (1) et portant sur 21 cas d'infections tuberculeuses massives chez les vaccinés étudiés par la radiographie, l'autre due au docteur T. Veber et portant sur 40 cas analogues, nous apportent de précieuses indications sur l'évolution de la surinfection tuberculeuse chez les vaccinés (le travail *in extenso* du docteur Veber doit paraître prochainement dans ces *Archives*).

Le premier fait qui frappe est que, chez les vaccinés, l'infection tuberculeuse due aux réinfections journalières s'étend progressivement à la plus grande partie du poumon; il existe bien, par conséquent, une imprégnation d'une grande partie de l'organe par les bacilles virulents.

Mais tandis que les infections successives des enfants non vaccinés et vivant en milieu bacillifère se traduisent par des images radiographiques montrant des adénites trachéo-bronchiques et péri-hilaires volumineuses « tumorales », pour employer l'expression de Sayé, avec prédominance des localisations broncho-pneumoniques à tendance extensive (lésions exsudatives), chez les vaccinés vivant dans les mêmes conditions, la radiographie montre des lésions ganglionnaires péri-hilaires

(1) Manicatide (M.) et Zavergiu-Theodoru (M.) : « Cercetări asupra vaccinului Calmette-Guérin B. C. G. imagini radiografice. » *Revista Stiinfelor Medicale*, n° 1, 1931.)

discrètes avec tendance à la calcification, ainsi qu'un processus fibreux s'étendant en éventail de la région péri-hilaire vers la périphérie, localisée surtout au pourtour des bronches et présentant çà et là de petites formations nodulaires également en voie de calcification.

Il s'agit donc là d'un processus de guérison sans tendance extensive ne traduisant en rien son existence à l'auscultation et n'exerçant aucune influence nocive sur la santé générale de l'enfant, qui continue à être florissante.

En présence de constatations de cet ordre, l'on doit logiquement admettre que l'immunisation de l'organisme, amorcé par le B. C. G., se continue automatiqueent par des infections successives aboutissant à la guérison des lésions, et que, par conséquent, l'immunité initiale ne fait que se renforcer par l'absorption journalière de quelques unités virulentes.

c) *Echecs de la prémunition.*

Parmi les objections que certains ont apportées à la méthode de vaccination par le B. C. G., figurent celles qui consistent à s'étonner que la prémunition compte un certain nombre d'échecs. Cet étonnement serait bien plutôt justifié s'il n'en était pas ainsi : quelle est la méthode d'immunisation qui ne compte à son actif un certain nombre d'insuccès ?

Mais il est certain que le faible pourcentage de tuberculisations chez les enfants vaccinés pourrait être encore réduit considérablement si la pratique de la vaccination était toujours correctement exécutée. Nous avons pu nous convaincre maintes fois, et malgré les affirmations contraires de la part des intéressés, que l'administration du vaccin est en réalité restée illusoire : sages-femmes se déchargeant sur la famille du soin d'administrer le vaccin, sans que leurs prescriptions soient exécutées ; vaccinations trop souvent incomplètement effectuées pour des causes diverses : vaccin régurgité par l'enfant, fausses déclarations de vaccinations dues à des motifs divers, etc.

Ces incorrections ou ces négligences dans l'administration du vaccin faussent tout naturellement les statistiques et font inscrire dans le groupe des vaccinés des enfants qui en réalié ne le sont pas.

Une autre cause d'échec est qu'en Roumanie presque jamais l'enfant né en milieu bacillifère n'est isolé après sa naissance ; la très faible proportion d'enfants vaccinés appartenant à cette catégorie et qui succombent à la tuberculose n'en est que plus éloquente quant à l'efficacité de la méthode.

Dans une circulaire que nous avons adressée récemment à tous les médecins qui pratiquent systématiquement la vaccination par le B. C. G. en Roumanie, nous posions la question de savoir quelle est la proportion des cas de tuberculoses chirurgicales apparues chez les vaccinés. Sur 40 réponses reçues jusqu'ici, 39 sont négatives; une seule répond affirmativement : il s'agit d'un enfant vacciné, âgé de deux ans, vivant au contact d'un oncle tuberculeux, et atteint d'un début de mal de Pott dorso-lombaire sans autres localisations.

C'est jusqu'ici le seul cas de ce genre connu par nous.

IV

APPLICATIONS THÉRAPEUTIQUES DU B. C. G.

Signalons d'abord l'innocuité du B. C. G. introduit dans l'organisme des malades atteints de tuberculose évolutive ; ce fait a déjà été signalé ailleurs. Certains médecins roumains — tant était grande leur confiance dans l'innocuité de la méthode — s'étant avisés d'inoculer à des tuberculeux en pleine évolution des doses massives de B. C. G. sous la peau, n'ont constaté qu'une réaction locale, sous forme de petits abcès froids accompagnés d'une réaction fébrile tout à fait transitoire.

Ils n'ont pu noter ni phénomènes réactionnels sérieux au niveau des foyers tuberculeux, ni surtout aggravation de l'état général. Cette expérience négative a son intérêt en ce qu'elle nous permet d'entrevoir la possibilité d'étendre plus tard la pratique de la vaccination, même dans des cas où l'individu réagit positivement à la tuberculine.

Citons à ce propos deux intéressantes observations communiquées par le docteur Prosteanu (de Timişoara).

Observation I. — La femme M. T..., domiciliée à Timişoara, atteinte de tuberculose pulmonaire ouverte et vivant dans des conditions sociales des plus mauvaises, accouche d'une fille ; vaccinée par le B. C. G. aussitôt après sa naissance, l'enfant est allaitée par sa mère.

Au bout de trois mois, apparition chez l'enfant d'une pneumonie, diagnostiquée comme pneumonie tuberculeuse par le médecin courant, diagnostic confirmé par l'auteur de l'obser-

vation. L'état du poumon va en s'aggravant progressivement jusqu'à la fin de la première année. A ce moment, et malgré la gravité de l'état général, on pratique la revaccination. Cette dernière s'accompagne, au bout de deux semaines, d'une amélioration que le docteur Prosteanu, dans son observation, qualifie de « miraculeuse ».

Aujourd'hui l'enfant, âgée de seize mois, est complètement guérie et se trouve en parfait état général.

Observation II. — Dans cette observation, dont nous ne possédons malheureusement que le texte écourté, on nous signale le cas d'un enfant vacciné, élevé au contact d'une mère tuberculeuse, atteint lui-même au cours de la première année d'une tuberculose pulmonaire évolutive et chez lequel la revaccination pratiquée au bout de la première année a produit une « résurrection ».

Nous signalons maintenant toute une série de cas de *lupus tuberculeux* et de psoriasis traités avec le plus grand succès, au moyen de l'endotoxine du B. C. G., par C. Iliesco et S. Longhin (1).

Un premier cas de lupus ulcéré fut traité par des injections sous-cutanées de B. C. G. à doses croissantes de 1/10-1/20 de milligramme. Le nombre total des injections s'éleva à 10 ou 12. Les résultats furent excellents et la guérison complète. A la suite des injections, il se produisait, au niveau des foyers cutanés, une légère réaction hyperémique, vite dissipée. On dut cependant renoncer à la méthode ; en effet, dès la cinquième injection (qui détermina l'appariton d'un abcès local), il se produisit des réactivations sous forme d'abcès au niveau de toutes les inoculations antérieures jusque-là silencieuses.

Aussi les auteurs remplacèrent-ils l'inoculation d'émulsion vaccinale de B. C. G. par des injections d'endotoxine de ce microbe préparé selon la méthode générale indiquée par Besredka pour la préparation des endotoxines. L'on inoculait à quatre jours de distance, par voie intradermique, des doses croissantes de 1 à 5 gouttes d'endotoxine. Les auteurs publient une série de 8 cas de lupus ulcéré complètement et définitivement guéris par cette méthode.

(1) Iliesco (C.) et Longhin (S.) : *Bulletin de la Soc. roumaine de Dermatologie*, séance du 12 juin 1930.

Id. : *C. R. 8e Congrès international de Dermatologie et Syphiligraphie*, Copenhague, 5-9 août 1930.

Nicolau (C.) : *Thèse* Bucarest, 1930.

Notons ici que l'action de l'endotoxine n'est nullement comparable à celle de la tuberculine préparée avec le B. C. G. ou à celle d'un simple filtrat de culture de ce microbe : ces deux derniers antigènes provoquent des réactions d'ordre allergique ; tandis que les réactions allergiques provoquées par l'endotoxine sont nulles, l'injection de cette dernière substance donne lieu simplement à l'apparition passagère, au point de l'inoculation, de petits nodules qui s'accompagnent d'une légère élévation thermique ne dépassant pas 38° et tout à fait transitoire.

Cette action thérapeutique ne s'observe que dans les cas de lupus ulcéré et ne se fait pas sentir dans les formes fermées de la maladie. Des résultats plus intéressants encore ont été obtenus par les mêmes auteurs (1) dans des cas de psoriasis traités par l'emploi de l'endotoxine du B. C. G. ; 14 cas de psoriasis furent guéris complètement (restitutio ad integrum) en un intervalle de temps qui a varié d'un mois et demi à quatre mois et demi.

V

VACCINATIONS PAR LE B. C. G. DANS L'ARMÉE ROUMAINE

Au cours de l'année 1930 furent entrepris les premiers essais de vaccination par le B. C. G. dans l'armée roumaine, sous la direction de notre regretté collaborateur et ami le médecin colonel C. Goresco, chef du service épidémiologique de l'armée.

Sur un nombre de 14.595 recrues, l'on pratiqua une première cutiréaction qui donna 7960 résultats positifs contre 6635 résultats négatifs. Ce deuxième groupe fut soumis à son tour, huit jours plus tard, à une seconde cuti-réaction qui fut positive chez 3088 individus et négative chez les autres. Parmi ces derniers, ceux qui avaient réagi négativement deux fois de suite reçurent chacun, sous la peau, 0,20 milligramme de vaccin ; une partie de ceux qui avaient réagi positivement une fois sur deux ne reçurent que la moitié de la dose. On vaccina de la sorte 4467 individus, le reste étant laissé comme témoins. Sur le nombre

(1) Iliesco (C.), Longhin (S.) et Popesco (D.) : « Sur l'étiologie et le traitement du psoriasis. » (*Bull. de la Soc. roum. de Dermatologie*, séance du 15 février 1931.)

Id. : *Bull. de la Soc. roum. de Dermatologie*, séance du 14 juin 1931.

total des vaccinés, il se produisit 32 abcès, dont 14 chez les hommes à 2 réactions négatives, soit une proportion de 0,57 % ; et 18 chez les hommes à une réaction négative et à une réaction positive, soit une proportion de 0,88 %. Comme d'habitude, les conséquences pratiques de ces petits abcès froids furent insignifiantes.

Cette expérience, qui est encore en cours, est intéressante en ce qu'elle indique à quel point une cuti-réaction positive à la tuberculine est loin de constituer une contre-indication à l'inoculation du vaccin chez les individus dont l'état général est bon.

VI

LA VACCINATION PAR LE B. C. G. ET LE PREMIER CONGRÈS NATIONAL DE LA TUBERCULOSE EN ROUMANIE

Le 22 juin 1931 s'est ouvert à Bucarest, sous les auspices de la Société d'Etude de la Tuberculose, le premier Congrès national de la Tuberculose. Par les communications qui y ont été faites, par les discussions auxquelles ces communications ont donné lieu, par les propositions qui y ont été présentées, il a été aisé de se rendre compte à quel point le problème de la vaccination des nouveau-nés par le B. C. G. avait acquis d'importance en Roumanie et avait excité l'intérêt des médecins.

L'un des quatre rapports présentés au Congrès a été consacré à cette question. D'une façon générale, toutes les communications concernant la vaccination anti-tuberculeuse étaient, sans restriction, des plus favorables à la méthode, et l'on put se rendre compte que l'émoi provoqué par les accidents de Lübeck était largement dissipé.

L'un des congressistes proposa de rendre la vaccination par le B. C. G. obligatoire et de l'inscrire dans la loi sanitaire, proposition qui fut reçue aux applaudissements de l'assemblée. Le président du Congrès dut faire remarquer que la proposition était inopportune dans les circonstances actuelles, et cela pour deux raisons : d'abord parce qu'il était raisonnable d'attendre pour imposer la méthode, que l'unanimité de l'opinion médicale roumaine fût mieux préparée pour l'accepter; en second lieu, parce

que, dans l'état actuel des moyens de communications en Roumanie, il était impossible d'assurer, à temps voulu, le vaccin nécessaire pour immuniser la totalité des nouveau-nés roumains dont le chiffre annuel dépasse 600.000.

Parmi les rapports présentés, signalons tout particulièrement un travail des docteurs Veber et Blechmann (1) relatif à l'activité, au cours des deux années 1929-1930, déployée par les infirmières visiteuses qui constituent les quatre équipes bucarestoises préposées au contrôle et à la revaccination des enfants par le B. C. G. En l'espace de ces deux années, ces infirmières ont fait, au domicile des enfants vaccinés, 38.630 visites et pratiqué un nombre de 7680 revaccinations.

Grâce à l'activité de ces équipes, un grand nombre de foyers de tuberculose ignorés ont pu être dépistés, et l'on ne saurait assez louer l'œuvre de propagande accomplie par elles.

Une étude bien documentée, présentée par MM. Athanasiu (C.), Barbulesco (I.) et Ionesco (G.) (2), relative aux vaccinations effectuées dans le département d'Ilfov, a montré la possibilité pratique d'étendre méthodiquement la vaccination au milieu rural; c'est ainsi qu'au cours de l'année 1930, 67,4 % des nouveau-nés de 23 communes rurales ont pu être vaccinés. Les observations générales rassemblées dans ce rapport sont celles qui ont maintes fois été signalées au cours de ce travail; nous n'y insisterons pas. Notons seulement l'absence signalée par les observateurs de complications bronchiales chez les enfants vaccinés atteints de rougeole ou de coqueluche : ces deux maladies sévirent en effet sous forme épidémique dans plusieurs des communes où se pratiqua la vaccination au cours des années 1929 et 1930.

Dans un rapport du docteur Axente Iancu (3), de Cluj, l'auteur, étudiant un certain nombre de cas de morts par dystrophies d'origine indéterminée survenues dans un centre d'assistance infantile de Cluj, signale les résultats de l'autopsie de 4 nourrissons qui avaient été vaccinés de deux à cinq mois auparavant par le B. C. G. Chez tous les quatre, on constata une certaine

(1) Veber (T.) et Blechmann (M.) : « Vaccinațiunea anti-tuberculoasă cu B. C. G. în cadrul profilaxiei sociale generale. » (*1er Congrès national de Tuberculose de Bucarest*, juin 1931.)

(2) Athanasiu (C.), Barbulescu (I.) et Ionesco (G.) : « Vaccinarea anti-tuberculoasă cu B. C. G. în mediul rural (Ilfov). » (*1er Congrès national de Tuberculose de Bucarest*, juin 1931.)

(3) Axente (I.) et Dariu (L.-P.) : « Contribuțiuni la vaccinarea anti-tuberculoasă cu B. C. G. » (*1er Congrès national de Tuberculose de Bucarest*, juin 1931.)

hyperplasie des ganglions mésentériques, mais aucune localisation autre; les poumons, ainsi que les ganglions hilaires, étant absolument normaux.

CONCLUSIONS

1° La vaccination des nouveau-nés contre la tuberculose par le B. C. G. a continué de prendre, en Roumanie, une extension de plus en plus grande. A la fin de 1930, elle se pratiquait systématiquement dans 48 villes principales et dans presque toutes les communes rurales de 4 départements. A ce moment, le chiffre des vaccinés dépassait 70.000. Un léger arrêt s'était fait sentir après les accidents de Lübeck; actuellement, la progression de la méthode a repris et croît rapidement de jour en jour.

2° L'on n'a eu à signaler, depuis notre dernier mémoire, aucun accident qui puisse être mis sur le compte du B. C. G., et l'innocuité de la vaccination est complète.

De même que partout ailleurs, les médecins appelés à pratiquer la vaccination sont unanimes à constater la diminution de la mortalité générale pour toutes espèces de causes de décès chez les enfants vaccinés. La mortalité infantile de zéro à douze mois qui, chez les non-vaccinés, varie en Roumanie de 15 % à 25 % (selon les régions considérées), varie chez les enfants vaccinés de 4 % à 11 %, soit une moyenne de 20 % dans le premier groupe et de 8 % dans le second.

Le bénéfice de la résistance non spécifique conféré par la vaccination se prolonge bien au delà de la première année de la vie et se fait encore nettement sentir à la fin de la troisième année.

3° Cette même diminution de la mortalité générale a été constatée chez les enfants de zéro à un mois, c'est-à-dire à un moment où l'immunité spécifique n'a pas encore eu le temps de s'établir. Aussi voyons-nous, dans cette constatation, la preuve que la vaccination par le B. C. G. a, sur l'accroissement de la résistance non spécifique de l'organisme aux infections, une action certaine.

4° Rien ne démontre d'une façon plus évidente l'efficacité de la prémunition spécifique par le B. C. G., que les résultats obtenus chez les enfants nés et vivant en milieu bacillifère. L'observation de 2180 enfants appartenant à cette dernière catégorie nous apprend que, selon les régions considérées, la léthalité par tuberculose varie de 0 % à 3,8 % (ce dernier chiffre englobant égale-

ment les cas de tuberculose « possible »). Des études très minutieusement poursuivies à Bucarest, où la léthalité des nouveau-nés par tuberculose est de 25 %, montrent que cette léthalité tombe chez les vaccinés à 1,74 % (tuberculose certaine) ou 2,7 % (tuberculose « possible »).

Quant aux décès par tuberculose, chez les enfants vaccinés au cours de la deuxième année de la vie, ils sont d'une insigne rareté.

5° L'étude radiographique du poumon des enfants vaccinés vivant en milieu bacillifère montre d'une part l'importance de l'infection bacillaire résultant de l'absorption de bacilles tuberculeux, et d'autre part la bénignité des infections qui s'accompagnent, au fur et à mesure de son apparition, d'un rapide processus de réactions fibreuses. Dans ce cas, l'infection virulente surajoutée à l'infection vaccinale ne peut qu'intensifier automatiquement l'effet de cette dernière.

6° L'étude des modifications de la formule leucocytaire sanguine, ainsi que celle de l'apparition des phénomènes allergiques chez les revaccinés, démontre qu'au cours de la seconde année de la vie, l'absorption de l'émulsion de B. C. G. peut se faire régulièrement à travers la muqueuse intestinale, d'où la possibilité de vacciner par cette voie des enfants qui ne l'ont pas été à leur naissance.

7° Les expériences de vaccination par voie sous-cutanée, poursuivies chez les adultes (armée roumaine), démontrent que l'inoculation du vaccin à des individus bien portants, mais se trouvant en état d'allergie (une cutiréaction positive sur deux), ne présente guère de danger.

8° Cette dernière affirmation est confirmée par les résultats thérapeutiques remarquables que l'on obtient au moyen d'inoculations successives de B. C. G., et surtout d'endotoxine de B. C. G. dans des affections tuberculeuses telles que le lupus, ou dans d'autres qui, telles que le psoriasis, sont très probablement d'origine tuberculeuse.

Tout un ensemble d'observations, qui démontrent l'action favorable du B. C. G. dans le traitement de certaines localisations tuberculeuses autres que le lupus (épanchements pleuraux post-colapso-thérapiques, épanchements péritonéaux, etc.), permettent d'entrevoir peut-être pour l'avenir un emploi plus étendu de ce vaccin comme agent thérapeutique. Nous tenons d'ailleurs à insister une fois de plus sur ce fait que l'on ne saurait identifier l'action du B. C. G. inoculé à un organisme tuberculeux avec celle

de la tuberculine : il y a là deux mécanismes tout à fait différents l'un de l'autre.

9° Nous tenons à renouveler ici l'affirmation formulée par nous voici deux ans, à savoir qu'il faut vacciner sans distinction tous les nouveau-nés et non pas seulement ceux qui sont nés en milieu bacillifère.

Nous avons pu recueillir récemment, en Roumanie, un certain nombre d'observations d'enfants tuberculeux dans l'entourage familial desquels il a été impossible de déceler l'existence de la tuberculose. Aussi étant donné l'innocuité et l'efficacité incontestables de la méthode, la vaccination de tous les enfants s'impose-t-elle aujourd'hui à tous les médecins comme une obligation morale, en attendant d'être rendue obligatoire par la loi.

Il résulte d'une expérience riche en observations et vieille déjà de plus de cinq ans, que l'on peut songer dès maintenant à élargir encore le cadre des indications en matière de vaccination par le B. C. G. ; nous pensons que l'on ne court aucun risque à faire absorber le vaccin non seulement à des enfants ayant dépassé les premiers jours de la vie, mais même à ceux plus âgés dont l'état allergique s'allie à un bon état général.

QUELQUES DONNÉES SUR L'ACTION ALLERGISANTE ET IMMUNISANTE DU B. C. G. ADMINISTRÉ PAR VOIE BUCCALE

par

M. NASTA et A. WEINBERG

(Travail du Laboratoire de Médecine expérimentale et de l'Institut de Sérologie)

I

LES RÉACTIONS ALLERGIQUES CHEZ LES ENFANTS VACCINÉS PAR VOIE BUCCALE AVEC LE B. C. G.

Une des objections les plus importantes que l'on pouvait faire *a priori*, et d'un point de vue purement théorique, à la vaccination antituberculeuse par le B. C. G., était, aux yeux de certains adversaires de cette méthode, le fait que, de l'avis de beaucoup de cliniciens, l'administration de ce vaccin, par voie buccale, ne déterminait pas chez le nouveau-né vacciné l'apparition de l'allergie traduite par la réaction à la tuberculine.

En effet, les premiers observateurs étaient unanimes à reconnaître que les cutiréactions à la tuberculine pratiquées chez les vaccinés n'étaient positives que dans une assez faible proportion. Depuis, cependant, ces renseignements assez sommaires ont été amplement complétés et élargis grâce à de nombreuses recherches parmi lesquelles, pour n'en citer que quelques-unes des plus importantes, il convient de mentionner celles de Calmette, Parisot et Saleur [1], Buschmann [2], Jahknis et surtout Weil Hallé et Turpin [3], Nobécourt et Kaplan [4], Lemaire-Villemin [5], Dreyfus Imbert, L. Bernard, Debré et Lelong [6], enfin Debré et

Cofino [7], dont le travail, en dehors d'une ample moisson de faits due à leurs recherches personnelles, contient en outre une revue critique de la plupart des travaux précédents.

Il est aujourd'hui bien établi que l'allergie à la tuberculine existe chez presque la totalité des enfants ayant ingéré le B. C. G. à la naissance. Cette allergie est, il est vrai, d'un caractère particulier et ne se manifeste pas avec la même intensité de réaction que celle déterminée par les contaminations virulentes. Aussi la cutiréaction est-elle souvent négative et, bien souvent, elle se traduit par un aspect différent qu'ont signalé H. Lemaire, Debré et d'autres auteurs, une simple traînée rouge le long du trait de scarification, qui est cependant bien une réaction allergique, car elle ne se rencontre jamais chez des enfants non vaccinés, à l'abri de tout contact infectant et dont l'étude poursuivie assez longtemps a pu prouver, par l'absence permanente de toute allergie, qu'ils n'avaient jamais subi une contamination virulente.

Si on pousse cependant plus loin l'étude de l'allergie, en pratiquant, chez les enfants à cutiréactions négatives, des intradermoréactions avec des doses croissantes de tuberculine : 1/10, 5/10 de miligramme et 1 milligramme, on peut aisément se rendre compte que 100 % des enfants entre zéro et trois mois, 94 % entre neuf à douze mois et une proportion moindre pour les âges suivants, réagissent à la tuberculine, donnant ainsi pour tous les âges, de zéro à quarante-huit mois, un pourcentage de 88,6 % de réactions positives.

Lorsqu'il s'agit d'enfants isolés aussitôt après leur naissance et vivant à l'abri de toute contamination, ainsi que le prouve la constance de l'allergie chez les témoins non-vaccinés vivant dans le même milieu, on remarque une diminution de la fréquence des réactions positives (100 % de zéro à trois mois, 41,8 % de trente à trente-six mois), ce qui prouve que l'allergie va en s'atténuant, avec l'âge.

Il n'en est pas de même des enfants vivant au sein de leurs familles ; pour ceux-ci, Weil Hallé et Turpin ont trouvé une augmentation de fréquence des cutiréactions positives assez nette chez les enfants provenant de parents indemnes de tuberculose, plus marquée encore lorsque les parents étaient tuberculeux (pour les premiers: 4,5 % à trois mois; 5,1 % à six mois; 10,8 % à neuf mois; 14,2 % à un an ; 26,6 % à trois ans et demi. Pour les seconds : 14,7 % à trois mois ; 66 % à deux ans et demi).

On peut donc considérer comme bien établi que la vaccination au B. C. G., par voie buccale, détermine constamment un état

d'allergie d'un degré, il est vrai, moins intense que ne le fait l'infection avec le bacille virulent, suffisante toutefois pour pouvoir affirmer que l'absorption de ce germe est la règle, sauf de très rares exceptions dues peut-être soit à des particularités individuelles, soit à une administration défectueuse du vaccin.

Cette allergie est bien établie au plus tard dès le troisième mois, mais fort probablement déjà plus tôt et se maintient avec peu de variations jusque vers la fin de la première année, quand on peut constater un commencement d'atténuation, ainsi qu'il ressort du fait qu'à partir de ce moment les réactions à la tuberculine sont moins constantes et que leur fréquence va en décroissant pour ne plus les rencontrer que dans environ 50 % des cas vers la troisième année.

Pour les enfants qui ne sont pas isolés, et vivant au sein de leurs familles, il s'ajoute à l'allergie déterminée par le vaccin un état d'allergie dû à des surinfections par des bacilles virulents ; chez ces enfants, la fréquence des cutiréactions positives augmente avec l'âge, contrairement à ce qui se passe chez les enfants isolés, et cela d'autant plus rapidement et d'une manière plus marquée que ces enfants vivent en milieu contaminé (parents tuberculeux).

A ce point de vue, nos recherches personnelles ne font que confirmer les données précédentes, tout en apportant certaines informations complémentaires quant à l'étude comparative de la fréquence des cutiréactions positives chez les enfants vaccinés et les témoins non-vaccinés rencontrés dans les milieux hospitaliers, sur lesquels ont porté nos recherches, et que nous exposerons dans le paragraphe 4 de ce travail.

Pour le moment, nous n'exposerons que le résultat de nos recherches sur la fréquence de l'allergie, chez des enfants vaccinés par le B. C. G. vivant dans un milieu relativement isolé, déterminé par l'épreuve de la cutiréaction, complétée par l'intradermoréaction aux doses croissantes de 1/10, 2/10 et 1 milligramme de tuberculine.

Le nombre des enfants sur lesquels nous avons pu pratiquer toutes ces épreuves est de 50, d'âge variable de zéro à trois ans. Nous devons, dès le début, faire remarquer que, en fait de cutiréactions, nous n'avons retenu comme positives que celles à caractère typique, négligeant celles à réaction simplement linéaire.

Sur ces 50 enfants, nous avons obtenu les résultats suivants :

Cutiréactions positives	8
Intradermo-réactions à 1/10 de milligramme positives	7
— 2/10 — —	10
— 1 milligramme positives	11
— 1 — négatives	14
Total	50

ce qui nous donne 72 % de réactions positives à la tuberculine, chiffre qui se rapproche sensiblement de ceux donnés par les auteurs précités. Si, toutefois, il leur est un peu inférieur, nous pensons que cela peut tenir à la répartition du nombre d'enfants selon l'âge, donnant une plus forte proportion d'enfants plus âgés à l'allergie déjà en voie de disparition. Comme, cependant, le nombre de nos enfants était trop petit pour pouvoir faire des pourcentages valables par groupe d'âge, nous nous contentons d'avancer le fait à titre de supposition, mais avec l'impression qu'il ne doit pas être loin de traduire la réalité.

II

INFLUENCE, SUR L'ÉTAT ALLERGIQUE, DE L'ADMINISTRATION DU B. C. G., PAR VOIE BUCCALE, CHEZ LES ENFANTS REVACCINÉS A UN AN

Si, au point de vue de l'allergie tuberculinique chez les enfants vaccinés par voie buccale à leur naissance, l'accord est aujourd'hui unanime, il est un point sur lequel il nous manquait jusqu'à présent tout renseignement, c'est de savoir si le vaccin administré par cette même voie à des enfants d'un an ou plus âgés, lors de la revaccination, était encore absorbé et pouvait exercer une action quelconque sur l'organisme. Le fait paraissait plutôt douteux et, de l'avis de la majorité des auteurs, l'absorption du vaccin par l'intestin, moins perméable à cet âge, peu probable; aussi est-ce surtout la voie sous-cutanée que la plupart recommandent aux fins de la revaccination.

Il était donc intéressant de voir comment se comporteraient les enfants d'un an n'ayant pas réagi, ou seulement très faiblement, à l'intradermo-réaction avec 1 milligramme de tuberculine, si on les éprouvait à nouveau, un mois après la revaccination par voie digestive.

Nous avons pu faire ces recherches sur 20 enfants avec les résultats suivants :

Cutiréactions positives	1
Intradermo-réactions positives avec 1/10 de milligramme.	15
— — 2/10 —	4

ce qui donne 100 % de réactions positives.

Voici donc 20 enfants d'un an, vaccinés par le B. C. G. à leur naissance, qui ne réagissent pas même à l'intradermo-réaction pratiquée avec 1 milligramme de tuberculine, et qui, un mois après l'administration d'une nouvelle dose vaccinante, non seulement présentent tous l'allergie tuberculinique, mais encore celle-ci paraît-elle être plus prononcée que nous ne l'avions constatée chez les enfants, à la suite de la première vaccination.

En effet, tandis que chez ces derniers nous avons dû pratiquer, sur un assez grand nombre, des intradermo-réactions avec 1 milligramme de tuberculine, sans malgré cela obtenir un pourcentage de 100 % de réactions positives, nous avons obtenu ce résultat chez les revaccinés sans jamais avoir recours à cette dose de tuberculine, et même la dose de 2/10 de milligramme n'a été employée que dans un nombre restreint de cas, le maximum de résultats positifs, soit 3/4, ayant été obtenu déjà avec la dose de 1/10 de milligramme.

Comme ces enfants continuaient à vivre dans le même milieu isolé, et qu'il est malaisé d'admettre qu'une si grande différence de l'état allergique se fût produite dans un espace de temps si court, et avec une telle constance, chez tous les enfants revaccinés, il ne fait aucun doute, pensons-nous, que ce n'est qu'à l'absorption du vaccin par la voie digestive que peut être attribuée l'apparition de cette allergie.

Mais, à considérer ces résultats, un autre fait attire notre attention. En effet, la précocité avec laquelle apparaît cette allergie, ainsi que son intensité, qui dépassent ce qu'il nous a été donné d'observer chez les enfants vaccinés, nous font supposer que chez nos enfants, quoique ne réagissant pas à la tuberculine, il devait y avoir un état d'allergie latente que la revaccination n'a fait que réveiller et réactiver. De pareils faits ont d'ailleurs été déjà signalés entre autres par Willis [8] qui avait observé, chez des cobayes immunisés deux ans auparavant par le bacille atténué de la souche R_1, et qui ne réagissaient plus à la tuberculine, l'apparition infiniment plus précoce et plus intense de l'allergie chez ces animaux, par rapport aux témoins, lorsqu'ils étaient

soumis à une réinfection virulente. Aussi cet auteur admet-il, pour expliquer ce phénomène, ainsi que le fait que ces cobayes, malgré l'absence d'allergie, présentaient une notable immunité vis-à-vis de l'infection virulente, l'existence d'une allergie latente, réveillée par la réinfection.

Cette supposition nous paraît d'autant plus plausible que, sur 4 enfants âgés d'un an qui, n'ayant pas reçu de B. C. G. à leur naissance, et qui ne réagissaient pas à la tuberculine, ont été vaccinés par voie buccale, nous avons enregistré des résultats quelque peu différents. En effet, dans ce cas, il nous a fallu, 2 fois sur 4, recourir à l'intradermo-réaction à la dose de 1 milligramme pour mettre en évidence l'allergie, ce qui ne nous était pas arrivé une seule fois sur les 20 enfants revaccinés et éprouvés à la tuberculine.

Nous croyons donc pouvoir conclure, non seulement que le vaccin administré par voie buccale à des enfants âgés d'un an est absorbé par l'intestin, puisqu'il donne naissance à un état allergique n'existant pas avant son administration, mais aussi que l'anergie de certains enfants vaccinés n'est qu'apparente, et qu'en réalité on est en droit de supposer l'existence d'une allergie latente, que la revaccination réveille et réactive.

III

RÉACTIONS SANGUINES CHEZ LES ENFANTS AGÉS D'UN AN REVACCINÉS OU VACCINÉS AVEC LE B. C. G. PAR VOIE BUCCALE

L'absorption du B. C. G. par la voie digestive a été prouvée, entre autres, par les recherches de différents auteurs qui ont pu mettre en évidence des modifications sanguines survenant à la suite de l'ingestion du vaccin. Ainsi Buschmann [9] a montré que, chez 73 % des enfants vaccinés par cette voie, aussi bien que chez 93 % des enfants vaccinés par voie sous-cutanée, on pouvait trouver une accélération marquée de la vitesse de sédimentation des globules rouges.

Pittaluga et Garcia [10] ont étudié, sur 100 enfants vaccinés, les modifications du nombre des leucocytes, de la formule leuco-

cytaire, ainsi que de la formule d'Arneth. Ils ont trouvé qu'il existe, au cours de la première semaine, après la vaccination, une monocytose avec maximum vers le cinquième jour, accompagnée d'une lymphocytose, prolongée jusque vers la troisième et la quatrième semaine. Les polynucléaires, qui sont augmentés les deux premiers jours, diminuent ensuite de nombre, en même temps qu'apparaît une déviation à gauche de la formule d'Arneth.

Nous avons déterminé le nombre des leucocytes et la formule leucocytaire chez 19 enfants avant la revaccination et, ensuite, généralement le deuxième, cinquième, dixième, vingt-deuxième et quarante et unième jour. Chez 6 enfants, nous avons en même temps établi la formule d'Arneth. En plus, nous avons étudié de la même manière le sang de 5 enfants vaccinés ceux-ci, pour la première fois, à l'âge d'un an.

Voici les observations de ces enfants :

I. — Enfants revaccinés à un an.

Observation I. — M. M..., né le 13 décembre 1929, revacciné les 21, 23, 25 février 1931.

Formule leucocytaire :

Date	Gl. blancs	P. N.	E.	B.	Ly.	Mono.
—	—	—	—	—	—	—
Avant	12.000	64	2	0	27	7
Après 2 jours...	20.000	51	0,5	0	43,5	5
— 5 — ...	21.000	30	1	0	59	10
— 10 — ...	11.600	32	1	0	59	8
— 22 — ...	15.000	36	3	0	48	13
— 41 — ...	16.000	35	1	0	56	8

Leucocytose, lymphocytose, monocytose.

Observation II. — I. B..., né le 26 octobre 1929, revacciné les 14, 16, 18 mars 1931.

Formule leucocytaire :

Date	Gl. blancs	P. N.	E.	B.	Ly.	Mono.
—	—	—	—	—	—	—
Avant	10.200	54	3	1	38	8
Après 2 jours...	8.000	45	1	1	49	4
— 5 — ...	11.000	41	3	0	51	5
— 10 — ...	13.000	57	5	0	33	5
— 17 — ...	14.400	53,5	0,5	0	39	7

Leucocytose, lymphocytose.

Observation III. — V. P..., né le 25 janvier 1930, revacciné les 21, 23, 25 février 1931.

Formule leucocytaire :

Date	Gl. blancs	P. N.	E.	B.	Ly.	Mono.
Avant	12.600	23	1	0	68	8
Après 2 jours...	14.000	40	1	0	52	7
— 5 — ...	16.400	39	1	0	52	8
— 10 — ...	19.000	40	0	0	55	5
— 22 — ...	10.800	40	0	0	49	11
— 41 — ...	12.000	33	1	0	60	5
— 55 — ...	11.000	36	1	1	54	8

Leucocytose.

Formule d'Arneth :

Date	I	II	III	IV	V
Avant	8	46	37	9	0
Après 2 jours.....	17	34	36	13	0
— 5 —	6	31	43	17	0
— 10 —	5	34	37	20	4
— 22 —	8	37	33	17	5
— 41 —	5	23	48	21	3
— 55 —	6	24	54	14	2

Déviation à gauche, après 2 jours.

Observation IV. — B. M..., né le 12 septembre 1929, revacciné les 20, 22 24 février 1931.

Formule leucocytaire :

Date	Gl. blancs	P. N.	E.	B.	Ly.	Mono.
Avant	10.200	40	1	0	52	7
Après 3 jours...	14.000	36	3	0	54	7
— 6 — ...	14.800	25	1	0	67	7
— 11 — ...	19.200	32	0	0	64	4
— 39 — ...	18.000	40	0	0	52	8
— 42 — ...	10.400	41	0	0	51	8
— 56 — ...	20.000	36	1	0	54	8

Leucocytose, lymphocytose.

Formule d'Arneth :

Date	I	II	III	IV	V
Avant	3	16	41	28	12
Après 3 jours.....	4	18	30	32	16
— 6 —	4	23	32	23	18
— 11 —	9	33	30	21	7
— 39 —	11	33	50	6	0
— 42 —	8	25	54	11	2
— 56 —	3	21	55	16	5

Déviation à gauche.

Observation V. — I. S..., né le 22 septembre 1929, revacciné les 20, 22 24 février 1931.

Formule leucocytaire :

Date		I	II	III	IV	V
Avant	10.400	42	3	0	48	9
Après 3 jours...	16.000	43	1	0	47	8
— 6 — ...	15.000	30	1	0	59	10
— 11 — ...	12.000	30	3	0	54	13
— 23 — ...	11.600	40	1	0	50	9
— 41 — ...	11.000	48	1	1	40	8

Leucocytose, lymphocytose, monocytose.

Formule d'Arneth :

Date	I	II	III	IV	V
Avant	5	32	33	28	2
Après 3 jours.....	3	26	48	23	0
— 6 —	5	34	45	14	2
— 11 —	18	54	24	3	1
— 23 —	12	49	49	8	0
— 41 —	10	44	33	13	0

Déviation à gauche.

Observation VI. — I. B..., né le 5 décembre 1929, revacciné les 21, 23 février 1931.

Formule leucocytaire :

Date	Gl. blancs	P. N.	E.	B.	Ly.	Mono.
Avant	9.400	57	1	0	32	10
Après 2 jours...	13.000	28	1	0	62	9
— 5 — ...	15.200	26	1	0	66	7
— 10 — ...	15.600	40	0	0	55	5
— 22 — ...	10.400	41	2	0	50	7
— 41 — ...	10.000	35	1	0	57	7
— 55 — ...	12.000	36	0	0	57	7

Leucocytose, lymphocytose.

Observation VII. — A. I..., né le 16 mars 1929, revacciné les 21, 23, 25 février 1931.

Formule leucocytaire :

Date	Gl. blancs	P. N.	E.	B.	Ly.	Mono.
Avant	11.600	65	1	0	30	4
Après 2 jours...	14.000	29	2	0	61	8
— 5 — ...	12.600	24	1	0	70	5
— 10 — ...	14.000	36	1	0	57	6
— 27 — ...	16.000	20	1	0	63	16

Leucocytose, lymphocytose.

Formule d'Arneth :

Date	I	II	III	IV	V
Avant	7	46	39	8	0
Après 2 jours	10	25	45	19	1
— 5 —	9	32	47	13	1
— 10 —	5	40	41	13	1
— 27 —	12	48	33	7	0

Déviation à gauche.

Observation VIII. — S. N..., né le 29 avril 1929, revacciné les 20, 22, 24 février 1931.

Formule leucocytaire :

Date	Gl. blancs	P. N.	E.	B.	Ly.	Mono.
Avant	8.000	44	1	0	48	7
Après 3 jours	16.400	45	0,5	0	50	4,5
— 6 —	18.000	42	0	0	51	7
— 11 —	13.600	40	0	0	55	5
— 23 —	12.400	48	0	0	39	11
— 42 —	14.000	47	0	0	40	13
— 56 —	10.400	37	0	0	56	7

Leucocytose, lymphocytose.

Formule d'Arneth :

Date	I	II	III	IV	V
Avant	5	20	35	24	6
Après 3 jours	10	40	27	22	1
— 6 —	20	41	26	11	2
— 11 —	8	37	44	10	1
— 23 —	10	30	37	15	8
— 42 —	5	29	45	16	5
— 56 —	5	22	55	11	7

Observation IX. — I. N. O..., garçon, né le 23 février 1931, revacciné les 14, 16, 18 mars 1931.

Formule leucocytaire :

Date	Gl. blancs	P. N.	E.	B.	Ly.	Mono.
Avant	16.600	30	1	0	60	9
Après 2 jours	12.000	30	0	0	61	9
— 5 —	13.600	36	2	1	52	9
— 10 —	21.200	28	0	0	60	12
— 24 —	20.000	48	2	1	47	3
— 37 —	15.000	40	0	1	52	7
— 75 —	13.000	23	3	0	67	7

Leucocytose, monocytose.

Observation X. — A. V..., garçon, né le 29 février 1930, revacciné les 14, 16, 18 mars 1931.

Formule leucocytaire :

Date	Gl. blancs	P. N.	E.	B.	Ly.	Mono.
Avant	14.100	30	3	0	61	6
Après 2 jours...	11.600	28	3	1	65	3
— 5 — ...	16.000	26	3	0	65	6
— 10 — ...	17.400	27	2	0	66	6
— 21 — ...	17.000	28	3	0	63	6
— 37 — ...	17.000	39	3	0	50	8
— 55 — ...	11.000	26	0	1	63	8

Leucocytose, lymphocytose.

Observation XI. — P. B..., garçon, né le 2 août 1929, revacciné les 20, 22, 24 février 1931.

Formule leucocytaire :

Date	Gl. blancs	P. N.	E.	B.	Ly.	Mono.
Avant	11.000	45	2	0	50	4
Après 3 jours...	16.800	50	1	0	44	5
— 6 — ...	18.800	50	1	0	44	5
— 11 — ...	19.200	46	1	0	48	5
— 23 — ...	11.000	44	5	1	41	9
— 42 — ...	11.000	53	1	0	35	10
— 56 — ...	14.000	45	2	0	45	8

Observation XII. — L. C..., garçon, né le 31 avril 1930, revacciné les 14, 16, 18 mars 1931.

Formule leucocytaire :

Date	Gl. blancs	P. N.	E.	B.	Ly.	Mono.
Avant	11.600	35	5	0	53	7
Après 2 jours...	13.200	39	3	0	50	8
— 5 — ...	13.400	40	2	0	54	4
— 10 — ...	16.000	34	3	0	55	8
— 24 — ...	22.000	32	4	0	59	5
— 37 — ...	21.400	59	2	1	38	0
— 55 — ...	12.000	29	3	0	62	5

Leucocytose, lymphocytose.

Observation XIII. — D. B..., garçon, né le 17 mai 1930, revacciné les 28 et 30 mars et le 1er avril 1931.

Formule leucocytaire :

Date	Gl. blancs	P. N.	E.	B.	Ly.	Mono.
Avant	12.200	35	1	0	55	8
Après 3 jours...	21.000	40	8	0	48	4
— 6 — ...	18.000	36	4	0	52	8
— 10 — ...	11.000	38	5	1	50	6
— 23 — ...	11.000	34	0	0	62	4

Leucocytose.

Observation XIV. — M. M..., fille, né le 13 mai 1930, revaccinée les 14, 16, 18 mars 1931.

Date	Gl. blancs	P. N.	E.	B.	Ly.	Mono.
Avant	11.000	53	5	0	34	8
Après 2 jours...	8.400	36	3	0	52	12
— 5 — ...	11.200	26	3	0	61	10
— 10 — ...	11.000	20	6	1	62	12
— 24 — ...	13.000	50	5	0	41	4
— 37 — ...	11.400	43	2	0	50	5
— 55 — ...	10.000	20	5	0	72	4

Observation XV. — M. I..., garçon, né le 22 janvier 1930, revacciné les 20, 22, 24 février 1931.

Formule leucocytaire :

Date	Gl. blancs	P. N.	E.	B.	Ly.	Mono.
Avant	9.600	27	1	0	64	8
Après 3 jours...	10.400	25	1	0	67	7
— 6 — ...	12.800	30	1	0	61	8
— 11 — ...	19.200	21	0	0	69	10
— 23 — ...	10.000	28	1	0	63	8
— 42 — ...	10.000	25	1	0	68	6
— 56 — ...	10.000	26	2	0	70	2

Leucocytose, lymphocytose.

Formule d'Arneth :

Date	I	II	III	IV	V
Avant	11	44	41	4	0
Après 3 jours.....	12	60	26	2	0
— 6 —	18	59	22	1	0
— 11 —	13	64	18	5	0
— 23 —	6	37	50	7	0
— 42 —	4	30	50	10	6
— 56 —	5	21	56	18	0

Déviation à gauche.

Observation XVI. — A. B..., fille, née le 16 octobre 1929, revaccinée les 21, 23, 25 février 1931.

Formule leucocytaire :

Date	Gl. blancs	P. N.	E.	B.	Ly.	Mono.
Avant	11.000	40	1	0	47	12
Après 3 jours...	15.200	46	1	0	47	6
— 6 — ...	16.800	45	1	0	45	9
— 10 — ...	15.800	43	0	0	50	7
— 22 — ...	15.000	40	1	0	48	11
— 41 — ...	11.600	55	0	0	40	5
— 55 — ...	12.600	36	0	0	40	5

Leucocytose.

Observation XVII. — B. C..., garçon, né le 18 mai 1930, revacciné le 28 mars 1930 et le 1er avril 1931.

Formule leucocytaire :

Date	Gl. blancs	P. N.	E.	B.	Ly.	Mono.
Avant	16.000	36	1	0	55	8
Après 3 jours...	18.000	41	2	0	48	9
— 6 — ...	16.000	47	0	0	50	3
— 10 — ...	17.000	41	0	0,5	54,5	4
— 23 — ...	16.000	31	1	1	60	1
— 40 — ...	19.000	31	1	0	60	8
— 58 — ...	22.000	0	0	0	49	9

Leucocytose, lymphocytose.

Observation XVIII. — G. P..., fille, née le 28 mai 1930, revaccinée les 28, 30 mars et le 1er avril 1931.

Formule leucocytaire :

Date	Gl. blancs	P. N.	E.	B.	Ly.	Mono.
Avant	12.400	38	4	0	40	8
Après 3 jours...	14.000	47	6	0	45	5
— 6 — ...	14.200	37	4	0	47	11
— 10 — ...	14.600	44	3	0	45	8
— 23 — ...	13.000	46	3	0	48	3
— 40 — ...	14.000	44	6	0	44	6
— 58 — ...	14.000	53	5	1	38	3

Leucocytose, lymphocytose, monocytose.

Observation XIX. — G. C..., garçon, né le 22 décembre 1929, revacciné les 29, 31 mars et le 2 avril 1931.

Formule leucocytaire :

Date	Gl. blancs	P. N.	E.	B.	Ly.	Mono.
Avant	16.000	20	2	0	63	15
Après 2 jours...	13.000	24	3	0	56	15
— 5 — ...	13.200	26	2	0	61	11
— 9 — ...	13.000	30	2	0	62	6
— 22 — ...	11.000	30	2	0	62	8
— 55 — ...	13.000	27	2	0	60	11

II. — Enfants vaccinés à un an.

Observation I. — I. M..., fille, née le 1er mars 1930, vaccinée les 22, 24, 26 avril 1931.

Formule leucocytaire :

Date	Gl. blancs	P. N.	E.	B.	Ly.	Mono.
Avant	12.000	25	5	1	62	7
Après 2 jours...	15.000	36	2	0	54	8
— 5 — ...	18.000	37	0,25	0	55,75	8
— 10 — ...	20.000	27	2	0	60	11
— 15 — ...	21.000	24	0	0	69	7
— 23 — ...	19.600	35	1	1	56	7
— 40 — ...	16.000	39	0	0	54	7

Leucocytose.

Formule d'Arneth :

Date	I	II	III	IV	V
Avant	8	41	41	10	0
Après 2 jours.....	5	36	45	13	1
— 5 —	6	28	55	11	0
— 10 —	2	71	25	2	0
— 15 —	4	31	53	10	9
— 23 —	2	28	56	9	5

Pas de déviation appréciable.

Observation II. — E. P..., fille, née le 20 mars 1930, vaccinée les 22, 24 26 avril 1931.

Formule leucocytaire :

Date	Gl. blancs	P. N.	E.	B.	Ly.	Mono.
Avant	13.000	50	8	0	40	2
Après 2 jours...	16.400	30	7	0	61	2
— 5 — ...	24.000	48	4	0	42	6
— 10 — ...	19.000	37	7	0	43	13
— 22 — ...	18.000	32	4	0	57	7
— 40 — ...	20.000	50	5	0	40	5

Leucocytose, lymphocytose, monocytose.

Formule d'Arneth :

Date	I	II	III	IV	V
Avant	11	53	34	2	0
Après 2 jours	2	45	46	7	0
— 5 —	0	36	52	12	0
— 10 —	8	40	56	6	0
— 22 —	8	33	45	12	2
— 40 —	3	68	28	1	0

Pas de déviation.

Observation III. — M. C..., garçon, né le 14 mars 1930, vacciné les 22, 24, 26 avril 1931.

Formule leucocytaire :

Date	Gl. blancs	P. N.	E.	B.	Ly.	Mono.
Avant	12.000	51	1	0	42	6
Après 2 jours	17.000	47	1	0	46	6
— 5 —	14.000	29	2	0	62	7
— 10 —	13.000	37	1	0	52	10
— 12 —	13.000	27	3	0	59	11
— 22 —	15.400	34	1	0	6	6
— 40 —	16.000	52	3	0	40	5

Leucocytose, lymphocytose, monocytose.

Formule d'Arneth :

Date	I	II	III	IV	V
Avant	6	43	43	7	1
Après 2 jours	4	54	37	5	0
— 5 —	4	39	48	9	0
— 10 —	2	54	34	7	3
— 12 —	5	50	43	2	0
— 22 —	5	48	43	4	0
— 40 —	7	47	40	6	0

Pas de déviation.

Observation IV. — S. M..., fille, née le 28 mars 1930, vaccinée le 31 mars 1930.

Date	Gl. blancs	P. N.	E.	B.	Ly.	Mono.
Avant	12.000	40	2	1	52	5
Après 2 jours	11.000	42	0,5	0	49,5	8
— 10 —	18.600	37	0	1	54	8
— 32 —	12.000	49	0	0	40	11
— 40 —	8.000	59	1	0	34	6

Leucocytose, monocytose.

Formule d'Arneth :

Date	Gl. blancs	P. N.	E.	B.	Ly.	Mono.
Avant		6	32	45	17	0
Après 2 jours		1	35	44	19	1
— 10 —		9	54	41	0	0
— 32 —		4	50	40	6	0
— 40 —		3	38	52	7	0

Pas de déviation.

Observation V. — S. C..., fille, née le 28 mars 1930, vaccinée les 22, 24, 26 avril 1930.

Date	Gl. blancs	P. N.	E.	B.	Ly.	Mono.
Avant	11.400	55	1	1	38	6
Après 2 jours...	10.000	55	3	0	40	2
— 5 — ...	15.200	56	3	0	31	6
— 10 — ...	14.400	39	1	0	58	2
— 22 — ...	9.600	27	2	0	63	8
— 40 — ...	12.000	65,4	1	0	27,6	6

Leucocytose, lymphocytose.

Formule d'Arneth :

Date	I	II	III	IV	V
Avant	4	29	55	11	1
Après 2 jours	4	18	47	30	1
— 5 —	1	24	51	21	3
— 10 —	2	18	44	28	8
— 22 —	3	29	44	27	2
— 40 —	6	34	41	12	7

Pas de déviation

III. — **Enfant revacciné par voie sous-cutanée.**

Observation I. — C. D..., fille, née le 16 avril 1930, revaccinée (1/50 milligramme) le 9 mai 1931.

Formule leucocytaire :

Date	Gl. blancs	P. N.	E.	B.	Ly.	Mono.
Avant	9.200	36	2	0	55	7
Après 2 jours...	10.400	39	1	0	54	6
— 5 — ...	12.000	30	2	0	57	11
— 10 — ...	15.000	30	2	0	61	7
— 20 — ...	17.000	32	3	0	60	5

Leucocytose, lymphocytose, monocytose.

Formule d'Arneth :

Date	Gl. blancs	P. N.	E.	B.	Ly.	Mono.
	—	—	—	—	—	—
Avant		4	42	43	11	0
Après 2 jours		1	35	52	10	2
— 5 —		6	22	50	18	4
— 10 —		2	16	61	19	2
— 20 —		12	50	33	5	0

Déviation à gauche vers le vingtième jour.

En résumé, nous avons trouvé :

Leucocytose, lympho et monocytose	dans 3 cas
Leucocytose et lymphocytose	— 9 —
Leucocytose et monocytose	— 2 —
Lymphocytose et monocytose	— 1 —
Leucocytose seule	— 3 —
Aucune modification	— 1 —

La déviation vers la gauche de la formule d'Arneth a été constatée dans tous les 6 cas examinés.

Chez les 5 enfants vaccinés à l'âge de un an, nous avons trouvé:

Leucocytose, lymphocytose et monocytose	dans 2 cas
Leucocytose et lymphocytose	— 1 —
Leucocytose et monocytose	— 1 —
Leucocytose seule	— 1 —

La déviation de la formule d'Arneth a été négative chez tous les 5.

Il ressort assez nettement de ces recherches que l'administration du B. C. G. par la bouche, et cela qu'il s'agisse de revaccination ou de première vaccination, est suivie presque constamment de modifications sanguines, ainsi que cela se passe à la suite de la vaccination du nouveau-né, ce qui confirme une fois de plus que, même à cet âge, la pénétration des bacilles à travers la muqueuse intestinale a lieu.

IV

ÉTUDE COMPARATIVE DE LA FRÉQUENCE DE LA CUTIRÉACTION A LA TUBERCULINE, CHEZ LES ENFANTS VACCINÉS ET NON VACCINÉS, VIVANT DANS DIFFÉRENTS MILIEUX

Déjà, dans les études des premiers auteurs qui ont examiné de manière systématique la fréquence de la cutiréaction à la tuberculine chez les vaccinés, le fait avait été signalé que, tandis que dans certains milieux où les enfants étaient complètement isolés : crèches, œuvres de placement, on assistait, avec l'augmentation de l'âge, à une décroissance de fréquence des réactions positives (Debré et Cofino), au contraire, chez les enfants non isolés, vivant dans leurs familles et exposés aux contacts infectants intra ou extra-familiaux, on observait le phénomène inverse, c'est-à-dire une augmentation de la fréquence de réactions positives.

Nous avons pratiqué la cutiréaction, ou relevé sur les feuilles d'observations celles qui avaient été faites sur 1204 enfants de deux à trois ans, dont 461 vaccinés et 743 qui n'avaient pas été vaccinés, recrutés dans la clientèle hospitalière, c'est-à-dire dans deux services de médecine infantile, un service de consultations et une crèche.

Voici, en chiffres bruts, le résultat de ces recherches :

Non vaccinés, 743.

AGE	Consultation		Clinique infantile		Hôpital Caritas		Crèche Sainte-Catherine		Total	
0 à 6 mois.	0	4	18	41	8	37	3	73	29	155
6 à 12 — .	0	8	58	30	11	31	2	44	71	113
1 à 2 ans...	1	7	69	59	18	41	2	34	90	141
2 à 3 — ...	4	6	55	25	15	25	7	7	81	63
TOTAL	5	25	200	155	52	134	14	158	271	472

Vaccinés, 461.

AGE	Consultation		Clinique infantile		Hôpital Caritas		Crèche Sainte-Catherine		Total	
0 à 6 mois.	3	14	21	33	2	8	5	76	31	131
6 à 12 — .	3	14	27	45	1	9	3	37	34	105
1 à 2 ans...	5	24	23	44	2	17	0	12	30	97
2 à 3 — ...	0	9	7	7	1	5	0	4	8	25
TOTAL	11	61	78	129	6	39	8	129	103	358

Et exprimé en pourcentages de réactions positives :

AGE	Consultation		Clinique infantile		Hôpital Caritas		Crèche Sainte-Catherine		Total	
	V*	N**	V	N	V	N	V	N	V	N
0 à 6 mois.	17,64	0	38,90	35,30	20	17,75	6,15	3,94	19,60	15,75
6 à 12 — .	17,64	0	37,50	65,90	10	26,19	7,50	4,35	24,46	38,58
1 à 2 ans...	20,7	12,50	37,33	53,90	10,5	30,50	0	5,27	23,58	38,95
2 à 3 —...	0	40	50	68,75	16,6	34,50	0	50	24,24	56,11
TOTAL	15,30	16.6	37,70	52,10	13,55	27,90	5,80	15,30	22,12	36,48

* Vaccinés.
** Non vaccinés.

Trois faits importants se dégagent de l'étude de ces tableaux.

On remarque d'abord que, pour la période d'âge de zéro à six mois, et cela quel que fût le milieu, la proportion de réactions positives est plus forte chez les vaccinés que chez les non-vaccinés.

En second lieu, on peut voir très nettement que, pour les périodes d'âge suivantes, il y a une augmentation de ce pourcentage aussi bien pour les vaccinés que pour les témoins, et cela dans presque tous les milieux hospitaliers, excepté un seul, la crèche Sainte-Catherine, fait sur lequel nous aurons encore à revenir. Mais tandis que, pour les six premiers mois, les vaccinés donnaient une proportion de réactions positives plus forte que les témoins, à partir du sixième mois, ce sont ces derniers qui réagissent plus fréquemment à la tuberculine et leur pourcentage total, englobant toutes les catégories d'âge, finit par être plus fort que celui des vaccinés. Quant aux enfants de la crèche, non seulement le pourcentage de réactions positives est plus faible chez les vaccinés, à partir de l'âge de un an, mais au lieu de croître, nous le voyons s'abaisser à 0.

Que déduire de ces faits? Pendant les six premiers mois de la vie et en partie pendant toute la première année, l'allergie déterminée par le B.C.G., à elle seule, ou s'ajoutant à celle déterminée par les contaminations virulentes, contribue à donner chez les enfants vaccinés un plus fort pourcentage de cutiréactions positives.

Ensuite les choses se passent différemment, selon qu'il est question d'un milieu « relativement » isolé, comme la crèche dans laquelle nous avons fait nos observations, ou bien d'enfants vivant dans leurs familles. Nous disons « relativement » isolé, parce que les enfants n'y sont pas tous reçus dès le moment de leur naissance et certains ont pu être déjà exposés à des contacts extérieurs plus ou moins courts avant leur admission, d'autres enfin y sont reçus avec leurs mères au cas où celles-ci allaitent,

ce qui rend l'isolement seulement relatif ; malgré tout, les contacts avec le monde extérieur y sont de beaucoup réduits, et les enfants vivent dans des conditions d'hygiène et de salubrité que le surpeuplement et la promiscuité des milieux pauvres dont proviennent ces enfants ne leur offre sûrement pas. Or, dans ce milieu, le pourcentage des réactions positives reste remarquablement faible, pendant la seconde année, et l'accroissement est assez modéré même chez les enfants non-vaccinés, tandis que chez les vaccinés il y a au contraire diminution. (Le nombre d'enfants examinés étant trop petit, nous ne pouvons pas donner une valeur absolue aux proportions de 0 % rencontrées chez les vaccinés et de 50 % chez les non-vaccinés ; elles n'en ont pas moins une valeur d'indication dans le sens de l'augmentation de fréquence pour ces derniers, de diminution pour les premiers.)

Au contraire, chez les enfants de la clientèle hospitalière, exposés dans leurs familles ou au dehors aux nombreux contacts de toute sorte, le nombre des cutiréactions positives augmente sensiblement et rapidement avec l'âge. Mais le fait intéressant que nos recherches mettent en évidence est que cette augmentation est beaucoup plus importante pour les témoins que pour les vaccinés.

Evidemment, cette augmentation de l'allergie ne peut être due qu'aux contaminations virulentes, aussi bien pour les vaccinés que pour ceux qui ne le sont pas, et la preuve en est, ainsi que l'ont fait remarquer Debré et Cofino, qu'elle ne se produit pas chez les enfants absolument isolés dans les crèches, ainsi que nous avons pu le constater aussi nous-mêmes.

Il est toutefois intéressant de remarquer que, même dans ces conditions, et quoique nos recherches aient porté sur des enfants des milieux hospitaliers, donc sélectionnés dans le sens d'une morbidité par toutes causes, tuberculose y compris, cette augmentation est plus importante chez les enfants non-vaccinés.

Il nous semble logique de supposer qu'à conditions égales, et probablement pour les contaminations moins virulentes ou bien plus discrètes comme dose, chez les enfants vaccinés, un bon nombre de celles-ci n'arrivent pas à se greffer sur l'organisme ou, en tous les cas, n'arrivent pas à déterminer des lésions suffisamment importantes pour créer un état d'allergie du degré nécessaire à sa traduction par une cutiréaction positive.

Il est en effet connu, par les recherches de Opie [11] et ses collaborateurs, que, pendant la première enfance, le degré de l'allergie est en rapport direct avec l'importance des lésions tuberculeuses. Plus celles-ci sont marquées et ont une tendance à

l'activité évolutive, plus l'allergie est accentuée. Nous pouvons donc bien admettre que, chez les enfants vaccinés, le nombre des contaminations virulentes qui arrivent à se greffer sur l'organisme et de celles qui arrivent à déterminer des lésions de quelque importance est, à quantité de bacilles et à virulence égales, moindre que chez les témoins.

Le fait est plus saisissant encore lorsqu'il s'agit des enfants du milieu relativement isolé que nous avons étudié. En effet, ici, où les contaminations étaient, si elles avaient lieu, plutôt rares et discrètes, tandis que nous rencontrons encore une légère augmentation du nombre des cutiréactions positives chez les témoins, à partir de la première année, nous n'en rencontrons plus du tout chez les vaccinés.

Il aurait été intéressant, en poussant plus loin ces recherches, de faire l'analyse quantitative de l'allergie chez les enfants à cutiréaction positive, et de voir, par des intradermo-réactions à dilutions de plus en plus faibles (1/100.000, 1/200.000, etc.), si celle-ci est plus marquée chez les témoins non-vaccinés, ce qui prouverait chez ceux-ci la plus grande fréquence de lésions importantes ou avec tendance à l'évolution.

D'ailleurs, dans le chapitre suivant, dans lequel nous étudierons la morbidité tuberculeuse parmi les enfants à cuti positive, vaccinés et témoins, nous trouverons de nouvelles preuves à l'appui de cette manière de voir.

Pour le moment, nous devons seulement retenir le fait que l'infection latente à bacilles virulents est moins importante, aussi bien en fréquence qu'en importance des lésions déterminées, chez les vaccinés, que chez les témoins, ainsi que le témoigne la proportion moindre de cutiréactions positives chez les premiers.

V

ÉTUDE COMPARATIVE DE LA MORBIDITÉ TUBERCULEUSE CHEZ LES ENFANTS VACCINÉS PAR LE B. C. G. ET CHEZ LES TÉMOINS, NON VACCINÉS, DANS DIFFÉRENTS MILIEUX HOSPITALIERS.

Nous avons relevé, dans les différents services hospitaliers dans lesquels nous avons effectué nos recherches, le diagnostic clinique de tous les enfants à cutiréaction positive vaccinés (103), aussi bien que des témoins non-vaccinés (271).

TABLEAU

MONTRANT LA RÉPARTITION PAR AGE DES AFFECTIONS TUBERCULEUSES CHEZ LES ENFANTS A CUTIRÉACTION POSITIVE, VACCINÉS ET NON VACCINÉS

Age	Tuberculose pulmonaire		Granulie		Méningite tuberculeuse		Pleurésie		Adénopathie trachéobronchique		Pleuro-péritonite		Tuberculose osseuse		Total	
	V*	N**	V	N	V	N	V	N	V	N	V	N	V	N	V	N
0 à 6 mois	—	1	—	2	—	3	—	0	—	5	—	0	—	0	—	11	—	16
6 à 12 mois	1	3	2	1	3	2	0	1	5	7	0	2	0	0	11	16		
1 à 2 ans	1	5	0	2	0	5	0	2	1	6	0	2	0	0	2	22		
2 à 3 ans	0	10	2	2	1	7	1	4	2	13	2	5	0	2	8	43		
	0	10	0	4	1	7	1	4	3	25	1	7	0	4	6	61		
TOTAL	2	28	4	9	5	21	2	11	11	51	3	16	0	6	27	142		
Pourcentage	1,85	10,33	3,77	3,32	4,85	8,11	1,94	4,42	10,69	18,80	2,94	5,90	0	2,21	22,34	52,03		

* Vaccinés. — ** Non vaccinés.

Nous ne retiendrons dans ce tableau que les affections de nature tuberculeuse réparties selon l'âge. Voici les chiffres bruts et le pourcentage global.

De l'étude de ce tableau, nous pouvons dégager les faits suivants :

Pour toutes les formes d'affections tuberculeuses, les enfants non-vaccinés donnent un pourcentage beaucoup plus fort que les vaccinés, avec la seule exception des granulies où les chiffres sont sensiblement égaux, mais où nous avons aussi affaire à un nombre relativement restreint de cas. La différence est surtout saisissante pour la tuberculose pulmonaire (1,85 % vaccinés, pour 10,33 % témoins), ainsi que pour la tuberculose osseuse dont nous ne rencontrons aucun cas parmi les vaccinés.

Un autre fait non moins important est que, chez les vaccinés, la plus forte proportion d'affections tuberculeuses se rencontre pendant les six premiers mois, leur fréquence décroissant ensuite avec l'âge, tandis que chez les témoins leur nombre augmente d'année en an-

née ; il s'agit là sans aucun doute de cas où la contamination très précoce et massive a eu lieu avant que l'immunité ait eu le temps de s'établir.

Il est aussi intéressant de retenir que, tandis que chez les témoins de zéro à trois ans à cutiréaction positive, chez plus de la moitié (52,03 %), celle-ci est le témoin d'un état pathologique tuberculeux, elle n'a cette signification que dans 22,34 %, donc pas même le quart des cas chez les enfants vaccinés.

Enfin, il ne faut pas oublier que nos statistiques portant exclusivement sur des enfants des milieux hospitaliers, donc tous ou presque tous malades, il s'agit de toute évidence d'un matériel sélectionné dans le sens de la morbidité, et que ces données ne sont à considérer que sous ce point de vue très spécial.

Même dans ces conditions, cependant, le résultat global de notre enquête se traduit par un avantage très considérable à tous points de vue au profit des enfants vaccinés.

En effet, nous avons :

	Vaccinés	Non vaccinés
Infections latentes traduites par cutiréactions positives	22,12 %	36,48 %
Morbidité tuberculeuse chez les enfants à cuti-positives.....	22,34 %	52,03 %
Morbidité tuberculeuse en général....	5,85 %	19,11 %

CONCLUSIONS

1° Nos recherches confirment le fait, établi déjà par d'autres auteurs, que les enfants vaccinés au B. C. G., administré par voie buccale, sont presque tous en état d'allergie, que l'on peut facilement mettre en évidence si, à côté de la cutiréaction, on a recours aux intradermo-réactions à doses croissantes de tuberculine

Cette allergie, qui est presque la règle au cours de la première année, devient moins fréquente dans les années suivantes, chez les enfants complètement isolés et soustraits à tout contact infectant ; au contraire, elle augmente en fréquence et intensité chez les enfants exposés à pareils contacts.

2° L'administration du vaccin par voie buccale aux enfants d'un an, aux fins de revaccination ou même de vaccination, détermine l'apparition de l'allergie chez ceux qui ne l'avaient pas, ainsi que des modifications dans le nombre des leucocytes et la

constitution de la formule leucocytaire, qui prouvent que l'absorption du vaccin par voie digestive a lieu, même à cet âge.

La précocité et l'intensité avec lesquelles apparaît l'allergie, à la suite de la revaccination, nous fait supposer qu'elle existait à l'état latent, ayant été seulement réveillée et réactivée par la revaccination.

3° Nos recherches apportent une preuve de plus à l'efficacité de la vaccination par le B. C. G. en montrant que, non seulement, comme on le savait déjà, la mortalité par tuberculose est diminuée chez les vaccinés, mais qu'aussi l'infection latente, traduite par la cutiréaction positive, ainsi que la morbidité tuberculeuse, deviennent moins fréquentes à la suite de la prémunition par le bacille bilié de Calmette et Guérin.

BIBLIOGRAPHIE

1. Parisot et Saleur : « Le vaccin B. C. G. par voie hypodermique dans la prémunition des jeunes sujets soumis ou non à des contacts bacillaires familiaux. » (*Bull. Acad. Méd.*, v. 99, 1928, p. 649.)
2. Buschmann (H.) : « Contribution à l'étude de la vaccination antituberculeuse par le B. C. G. » (*Ann. Inst. Pasteur*, v. 43, 1929, p. 838.)
3. Weil-Hallé et Turpin : « Sur la vaccination antituberculeuse du nourrisson par le B. C. G. » (*Rev. de la Tuberculose*, 1929, p. 10.)
4. Nobécourt et Kaplan : « Observations d'enfants ayant ingéré du B. C. G. pendant les premiers mois de la vie. » (*Arch. de Méd. des Enfants*, n° 10, 1929.)
5. Lemaire (H.) et Willemin-Cloq : « Résultats d'une enquête portant sur 20 observations de nourrissons prémunis par le B. C. G. » (*Soc. de Pédiatrie*, 19 juin 1928.)
6. Bernard (L.), Debré (R.) et Lelong (M.) : « La cutiréaction tuberculinique chez les enfants vaccinés par le B. C. G. » (*Bull. Acad. Méd.*, décembre 1928, p. 1021.)
7. Debré (R.) et Cofino : « Sur la sensibilité cutanée à la tuberculine chez le nourrisson ayant ingéré le vaccin B. C. G. » (*Ann. Inst. Pasteur*, v. 49, 1930, p. 12.)
8. Willis (H.-S.) : « The waning of cutaneous hypersensitivenes to tuberculin and the relation of tuberculo immunity to tuberculo-allergy. » (*Am. Rev. of Tuberculosis*, v. 17, 1928, p. 240.)
9. Buschmann (H.) : *loc. cit.*
10. Pittaluga (G.) et Garcia (F.) : « Etude des variations leucocytaires chez les enfants vaccinés par le B. C. G. » (*Ann. Inst. Pasteur*, v. 43, 1929, p. 1233.)
11. Opie (L.-E.) et Mac Phedran (M.-F.) : « The contagion of Tuberculosis. » (*Am. Rev. of Tuberculosis*, v. 14, 1926, p. 347.)

MODIFICATIONS HÉMATOLOGIQUES PENDANT LES ACCÈS DE MALARIA

par

C.T. NICOLAU
Assistant à la Faculté de Médecine de Bucarest.

et

N. GINGOLD
Assistant à l'Institut d'Hygiène et de Santé publique de Bucarest.

(Travail de la IIe Clinique médicale : Directeur, Professeur-Docteur Danielopolu, et de l'Institut d'Hygiène : Directeur, Professeur-Docteur Mezincesco)

On trouve dans les études hématologiques classiques des accès de malaria, des résultats qui ne concordent pas. En ce qui concerne les observations faites sur les modifications de la leucocytose et la formule leucocytaire, les dates sont très variées. En dehors de la malaria aiguë et chronique dans laquelle les études systématiques sur les modifications des courbes leucocytaires furent bien mises au point par Schilling, les variations des divers éléments comme l'hémoglobine, la régénération du système rouge pendant l'accès et aussi la concentration de la bilirubine dans le sérum sont des questions qui n'ont pas été étudiées avec trop de détails. Au point de vue de la leucocytose, Naegeli trouve, tout au commencement de l'accès, le nombre des leucocytes normal ou un peu augmenté et, immédiatement après, une leucopénie qui correspond au moment maximum de la courbe thermique. Il a observé l'absence de cette neutrophilie dans les cas manquant d'accès après le traitement de quinine (Schilling).

Türck trouve une leucocytose au commencement de la courbe fébrile.

Billing et Poech signalent une polynucléose au début de l'accès.

Vincent parle d'une lymphocytose.

Garin et Affre, examinant 4000 cas, trouvent une polynucléose de 67,2 % et une mononucléose de 17,8 % pendaut les accès.

V. Cordier montre que l'accès de malaria produit une déviation

à gauche dans la formule leucocytaire. La déviation commence trois heures avant le début clinique de l'accès, atteint son maximum au moment des frissons et va en diminuant jusqu'à dix heures après le frisson.

R. Hattari, sur les P. G. P. injectés avec la malaria, trouve une augmentation des polynucléaires au début de l'accès. Les myélocytes peuvent atteindre 15 % et les cellules plasmatiques 10 %. Pendant l'incubation hypo-éosinophilie, et seulement après un nombre d'accès, une augmentation des éosinophiles peut survenir. Aucune modification de la part des lymphocytes et des gros mononucléaires.

A côté des données classiques qui considèrent la mononucléose comme un caractère essentiel hématologique dans la malaria chronique (Poch, Roger, Billet), nous avons trouvé dans la littérature des cas rares, cités par Lupu et Missirliu, qui ont trouvé une polynucléose constante dans un cas de malaria chronique.

Schilling, étudiant les courbes biologiques des leucocytes dans les accès de malaria, trouva les mêmes modifications que celles qui se trouvent dans une infection banale. Les trois phases biologiques (phase d'attaque, de défense, de guérison), bien caractérisées par lui dans la lutte de l'organisme contre une infection, correspondent aussi dans les accès de malaria avec une succession des courbes leucocytaires qui exprime l'état de l'organisme en lutte avec l'agent pathogène. Il trouve, au commencement de l'accès, une neutrophilie avec index nucléaire augmenté, très fréquemment avec disparition ou diminution des éosinophiles, des monocytes et l'abaissement des lymphocytes (phase d'attaque), une deuxième phase dans laquelle les éléments monocytaires augmentent et les éosinophiles reviennent, qui correspond à la phase de défense, et enfin la dernière qui correspond à la phase de guérison (dans les cas de malaria, la fin de l'accès) et qui se traduit par une lymphocytose.

Schilling, avec ses collaborateurs, a décrit ces variations des courbes leucocytaires en rapport avec différents moments avant l'accès ou en plein frisson.

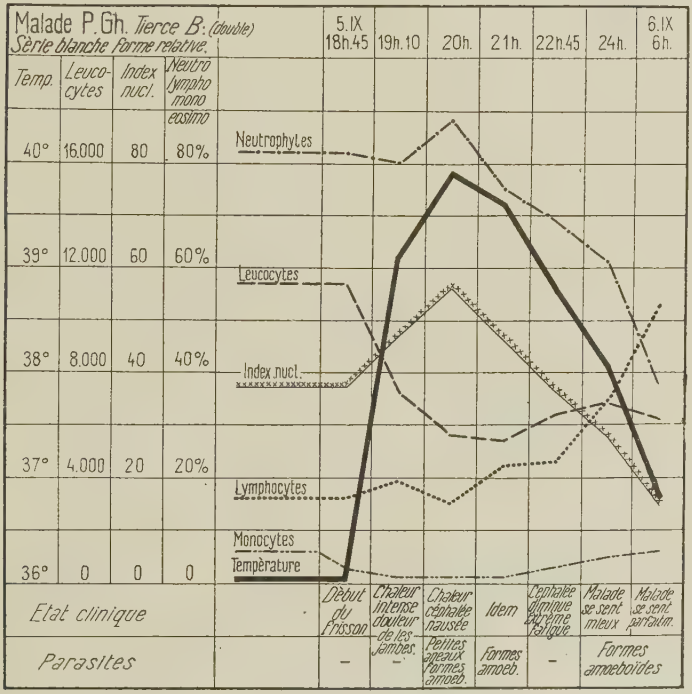
I. — *LA LEUCOCYTOSE ET LA FORMULE LEUCOCYTAIRE*

L'étude de la leucocytose et les courbes leucocytaires pendant l'accès de malaria présentent encore des discussions à cause des différentes interprétations de l'accès.

Steffco et Botchkareff suivent la leucocytose et la formule leucocytaire pendant la phase initiale de l'accès, dans la phase fébrile et la phase de transpiration.

Naegeli trouve les modifications de la leucocytose tout au commencement de l'accès *(Im ersten Anfang des Anfalles)*.

Aubertin mentionne au cours du paludisme aigu, au début de l'accès, une légère augmentation du nombre des globules blancs,

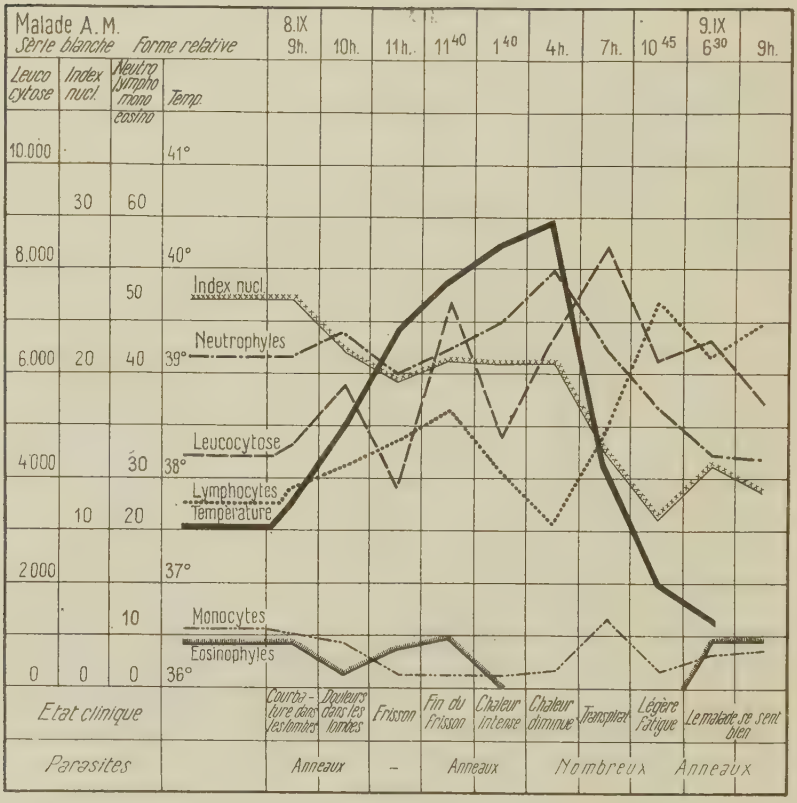


Ex. I.

réaction passagère qui fait rapidement place à la leucopénie caractéristique. Quelques auteurs parlent de l'aspect clinique de l'accès, les autres des frissons ou des manifestations subjectives.

Nous considérons que la marche de la température dans les accès de malaria est la plus rationnelle comme point comparatif avec les courbes biologiques leucocytaires et la leucocytose. Ces considérations, nous les croyons les plus justes à cause des variations dans les manifestations cliniques de l'accès. Nous avons

souvent trouvé que l'ascension thermique commence avant le frisson, quelquefois le frisson précède la courbe fébrile et qu'enfin il peut manquer. Très souvent, il arrive encore que les malades n'ont pas conscience de leur état fébrile. A cause de ces variations inconstantes du frisson au point de vue clinique, nous avons



Ex. II *a*.

étudié la leucocytose et la formule leucocytaire parallèlement avec la courbe fébrile.

Les perturbations provoquées pendant le frisson, par le choc qui donne toujours un déséquilibre vasculaire, amène un coefficient d'erreur et nous croyons plus intéressant, pendant l'accès de malaria, d'étudier les modifications hématologiques dans la phase qui suit le frisson s'il existe, et spécialement cette phase

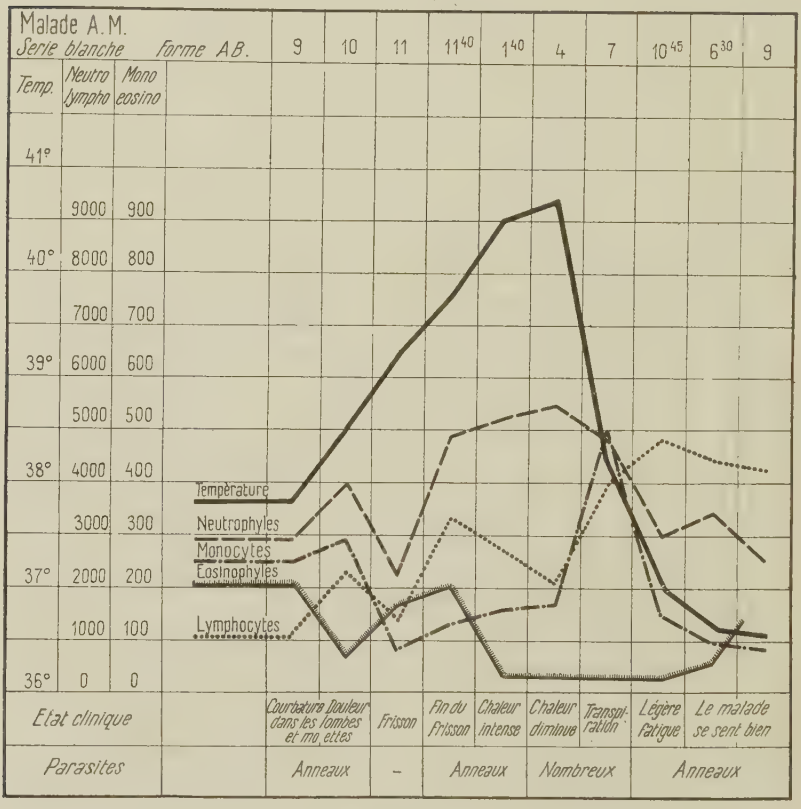
qui se prolonge encore quelques heures jusqu'à ce que la courbe fébrile revienne à la normale.

Nous avons eu la possibilité d'étudier, dans un hôpital bien aménagé pour une campagne anti-malarique (station anti-malarique de Gurbănesti, sous la direction du professeur Mezincesco), un nombre de cas de paludisme qui n'ont pas été traités avec la quinine. L'étude de la leucocytose et la formule leucocytaire ont été faites avant l'ascension thermique, pendant et jusqu'à la baisse complète de la température. Le sang a été pris à des intervalles très courts, 20-60 minutes du commencement de l'ascension thermique, pour avoir la possibilité d'interpréter plus justement les variations des courbes.

En rapport avec le frisson, la leucocytose présente, dans 75 % des cas, une baisse; pour 25 %, elle reste sans modifications et, très rarement, montre de légères augmentations (ex. IV). Nous n'avons pas trouvé la leucocytose en ascension, pendant le frisson. Les neutrophiles augmentent ou se maintiennent pendant l'accès et, très rarement, ils tombent pendant que la courbe thermique monte. Quelquefois, ils tombent aussi bien au point de vue relatif qu'absolu pendant le frisson (ex. II), et augmentant après, restent parallèles avec la courbe thermique jusqu'à ce qu'elle revienne à la normale. Souvent, la courbe des neutrophiles présente de petites oscillations, mais toujours en ascension parallèle avec la courbe fébrile. Les monocytes diminuent jusqu'à disparition, et nous n'avons jamais trouvé une ascension pendant toute la durée du frisson. Les éosinophiles qui disparaissent en même temps que les monocytes, restent absents non seulement pendant le frisson, mais aussi plus tard. Les lymphocytes montrent généralement une diminution ou des petites oscillations.

Il n'y a aucun rapport entre la courbe thermique et la leucocytose. Quelquefois, pendant que la courbe thermique monte, la leucocytose marque des oscillations importantes (ex. II); d'autres fois, la courbe fébrile monte pendant que la leucocytose baisse (ex. I). Ces variations de la leucocytose, nous les considérons en rapport avec le jeu des vaso-moteurs des vaisseaux. En revanche, nous constatons, parallèlement avec la courbe thermique, une augmentation de l'index nucléaire qui monte et quelquefois présente des oscillations sensiblement parallèles avec elle (ex. I, III *a*). Dans 90 % à peu près des cas, nous avons trouvé ces modifications constantes. Quant au parallélisme entre la leucocytose et l'index nucléaire, nous ne l'avons pas toujours constaté. La neutrophilie respecte la courbe fébrile en montant et descendant en

mêm temps (ex. I, III *a* et IV *a*). Les éosinophiles et les monocytes diminuent ou disparaissent pendant l'évolution thermique et réapparaissent à la baisse de la fièvre. En général, l'apparition des monocytes précède l'apparition des éosinophiles. Dans nos cas, l'apparition des monocytes se fait après le point culminant

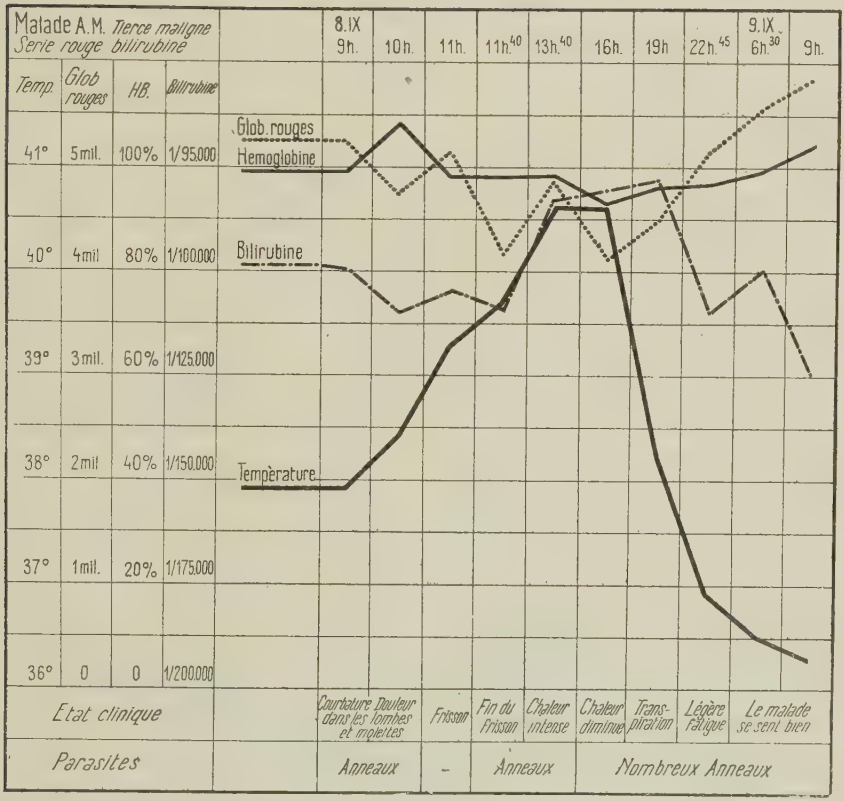


Ex. II *b*.

de l'accès, quand la courbe thermique a commencé sa chute vers la normale. Quant aux courbes lymphocytaires, elles respectent toujours la loi de Schilling, diminuant pendant que la courbe thermique monte et augmentant pendant que la courbe fébrile commence à descendre. Aucune manifestation constante des basophiles.

II. — *GLOBULES ROUGES, HÉMOGLOBINE, RÉTICULOCYTES*

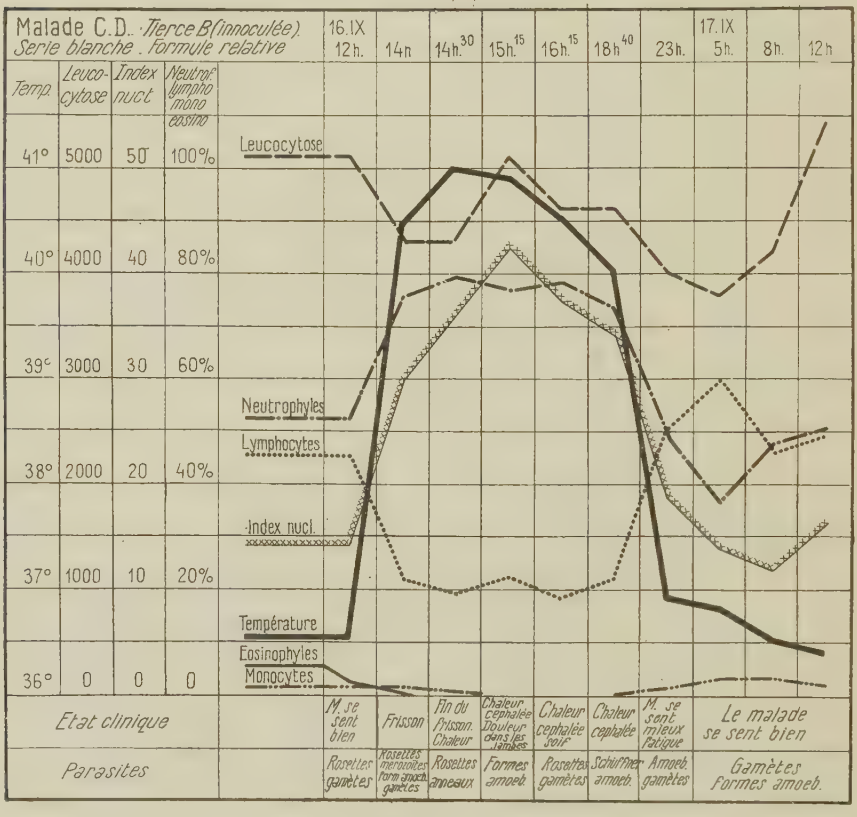
L'anémie chez les malariques est à peu près une règle générale. En dehors de la forme grave d'anémie pernicieuse d'origine palu-



Ex. II *c*.

déenne, décrite par Marchiafara et Celli, Ewing, Ascoli, et dans la gestation, par Brindeau et Théodoridès, la forme légère d'anémie de type secondaire s'installe progressivement avec les manifestations d'accès de malaria bien expliquées par la destruction des globules rouges, parasités pendant l'évolution des hématozoaires. Les destructions fortes dans la périphérie et dans les organes sont toujours compensées au commencement par la

régénération prompte de la part de la moelle osseuse. Les cas cités par Kelach et Da Costa, qui ont observé 5 cas de malaria aiguë avec une anémie jusqu'à 1.000.000, et aussi ceux de Naegeli, Ewing, Léri, Kelsch, Rieux sont des cas qui, probablement, n'ont pas été traités, et les destructions des globules rouges trop grandes et répétées ont épuisé la moelle osseuse et l'ont rendue incapable

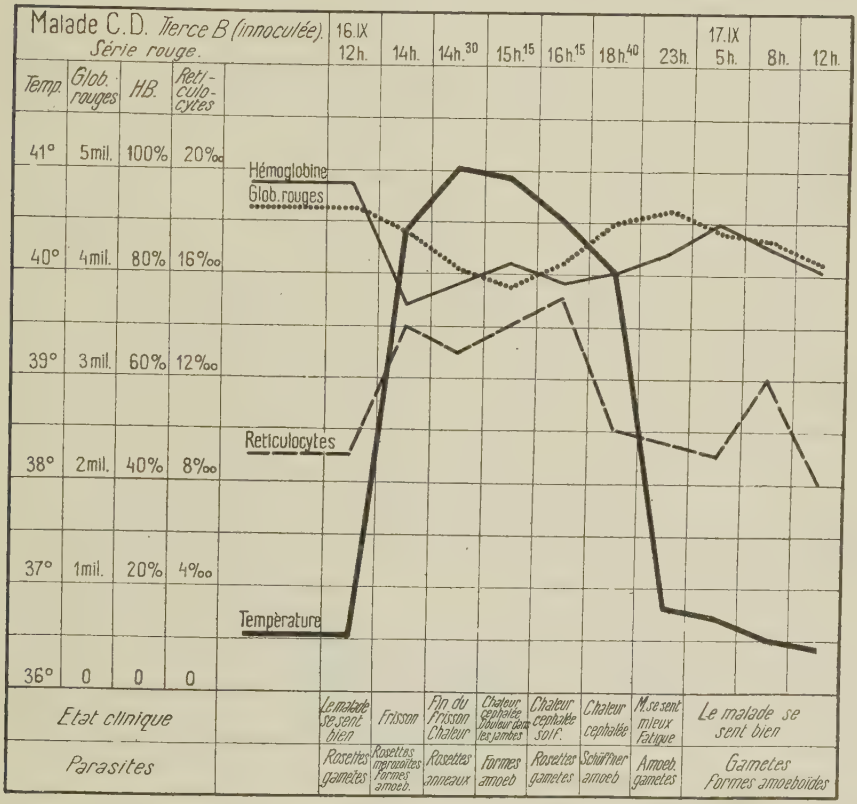


Ex. II *a*.

de régénération. Jang et Berghauer ont décrit des anémies semblables.

Aubertin signale, dans les anémies des malariques, des hématies polychromatophiles granuleuses, ponctuées et aussi des hématies contenant des restes nucléaires de Jolly. Ce signe de régénération est tellement rapide après les accès que le stade des hypoglobulies ne peut être décelé.

V. Schilling, par l'examen fait à deux et trois heures d'intervalle chez les malariques pendant l'accès journalier, trouve une polychromatophilie plus accentuée pendant l'accès que dans les périodes d'accalmie. Il trouve aussi, parallèlement avec les réticulocytes, des ponctuations basophiles qu'il considère comme des éléments rouges dégénérés.

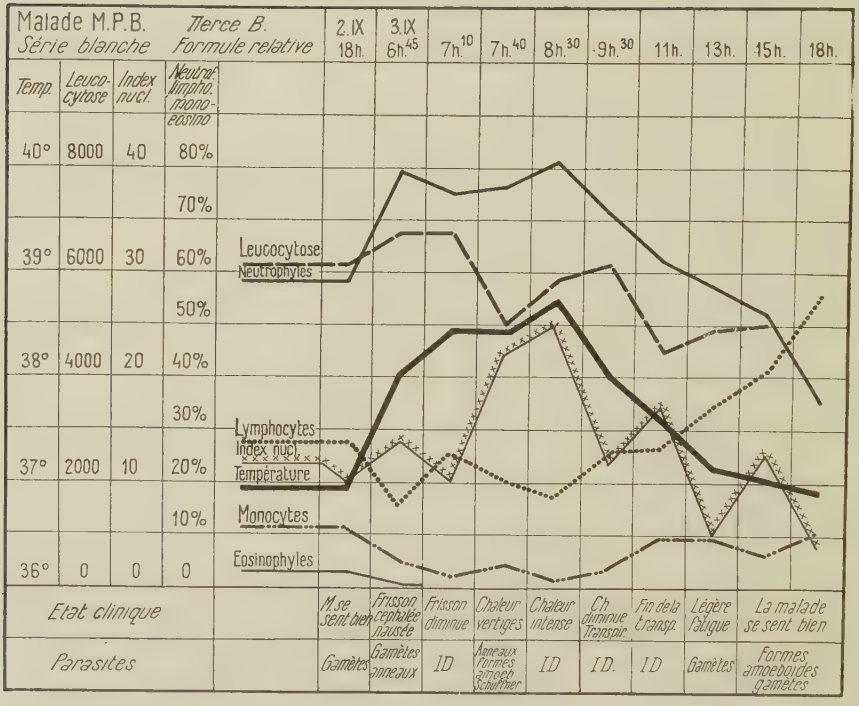


Ex. II *b*.

Nous avons suivi pendant l'accès de malaria à de courts intervalles (20-60 minutes) le nombre des globules rouges, l'hémoglobine et les réticulocytes. Les prises de sang ont été faites, comme nous l'avons mentionné plus haut, tout le temps pendant que la courbe thermique commence l'ascension jusqu'à son retour à la normale. Nous avons marqué ainsi d'une part le bilan entre les globules rouges détruits et la régénération de la moelle osseuse

et, d'un autre côté, le rapport du pigment hémoglobinique et la bilirubinémie.

Le nombre des globules rouges diminue, pendant l'accès de malaria, en moyenne de 3-800.000 hématies. Sans pouvoir établir une courbe exacte qui suive la destruction des hématies, nous avons observé qu'en général il atteint son maximum deux à trois heures après que la courbe thermique commence l'ascension. Au

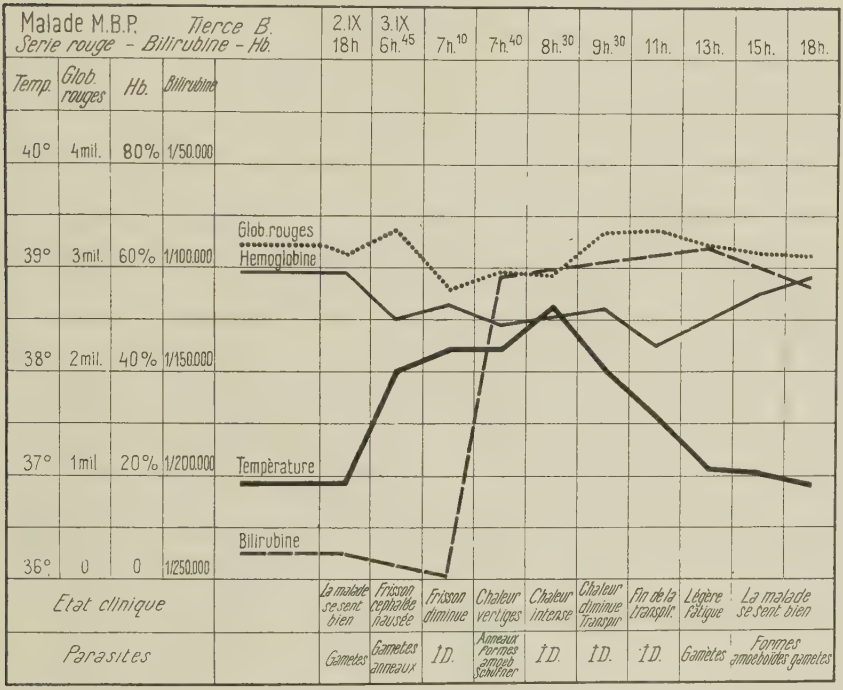


Ex. IV *a*.

moment où la courbe fébrile commence à descendre, le nombre des globules rouges augmente et revient quelquefois au normal après deux à six heures; d'autres fois, il reste un peu sous le chiffre initial et, très rarement, il dépasse le chiffre des globules rouges avant l'accès (ex. II *c*).

Parallèlement avec la courbe décroissante des globules rouges, la courbe d'hémoglobine exprime les mêmes modifications et, inversement, quand la courbe des hématies monte, le taux d'hémo-

globine monte aussi. Ainsi, on constate un abaissement du nombre des globules rouges et de l'hémoglobine pendant l'ascension de la courbe fébrile, et le contraire au moment où la courbe thermique commence à décroître. Très rarement, nous avons constaté, pour très peu de temps, une discordance entre le nombre des hématies qui diminue et le taux des hémoglobines qui augmente. Mais ce phénomène, observé au commencement de l'accès,



Ex. IV *b*.

ne dure que peu de temps (40-80 minutes), après lequel un parallélisme entre la courbe des variations érythrocytaires et la quantité d'hémoglobine s'installe (ex. II *c*). Les modifications de la courbe des hématies présentent ainsi des variations en rapport avec la courbe thermique (ex. II *c*) et ne présentent pas un rapport étroit avec le frisson. Nous sommes d'accord avec Wolsky et Schewelewa, qui trouvent aussi des troubles d'érythrocytes presque toujours quand les accès sont accompagnés d'une haute température.

Toutes les prises de sang faites pour la numération des globules rouges et de l'hémoglobine ont été accompagnées d'un contrôle des réticulocytes. Nous avons employé deux méthodes : la coloration vitale avec « bryant cresylblau » en solution alcoolique à 1 %, et la méthode des gouttes épaisses (Dicketropfen) de Schilling. Nous avons trouvé en général un parallélisme entre les deux méthodes quant aux résultats. Mais la méthode de Schilling s'impose par sa technique très simple sans nécessiter la chambre humide, et aussi par son avantage de pouvoir faire le contrôle d'éosinophilie en même temps.

Jang (C.-S.) et Berghund (Hilding) trouvent, dans les cas de malaria tierce non traités et dans lesquels le nombre des hématies descendait jusqu'à 1.000.000, le nombre des réticulocytes jusqu'à 23 %, ce qui dénote une régénération vive de la moelle osseuse, à cause d'une intense destruction globulaire produite par les parasites. Nous avons trouvé aussi par la méthode de la coloration vitale, et aussi par la goutte épaisse, une augmentation des réticulocytes immédiatement au commencement, lorsque la courbe thermique monte et quand on constate la diminution des globules rouges. Leur nombre descend quand l'accès est fini et la courbe thermique est revenue à la normale. Nous avons trouvé, parallèlement avec l'augmentation des réticulocytes (ex. III *b*), la présence des hématies très pâles avec le centre décoloré et l'hémoglobine diffluente, anisocytose et poikilocytose, caractères qui, quelquefois, ne durent que pendant le frisson et disparaissent avec lui. Ces phénomènes persistent très rarement après que la courbe thermique est revenue au normal. Les normoblastes et les thrombocytes géants se trouvent quelquefois pendant le frisson.

III. — *LA BILIRUBINÉMIE*

La bilirubinémie fut l'objet de quelques études dans la malaria.

Wolsky et Schewelewa observent qu'après quelque accès de malaria, la bilirubinémie augmente et dépasse la concentration normale et, à la fin des accès, la bilirubinémie revient lentement au normal.

M. Schacsuwarly trouve la bilirubinémie dans la période latente normale. Pendant l'accès, la bilirubinémie augmente la concentration jusqu'à 0,5-1 mmgr. %. L'auteur explique la sur-

production de la bilirubinémie par la destruction intense des globules rouges. A cause de la grande quantité qui se trouve dans la circulation, le foie organe éliminateur ne peut excréter toute la quantité; par conséquent, il résulte une bilirubinémie passagère dans le sérum. L'hyperbilirubinémie dans la malaria est en rapport direct avec l'accès.

G.-R. Ross considère que la bilirubinémie est la cause de l'hémolyse intravasculaire. La réaction de Hymans van den Bergh toujours indirecte.

Nous avons suivi la courbe des cencentrations de la bilirubinémie dans le sérum pendant les accès de malaria parallèlement avec la courbe de destruction des hématies et le taux de l'hémoglobine. La méthode fut celle de Hymans van den Bergh dosée par l'appareil de Haselhorst. Nous avons toujours effectué les méthodes directe et indirecte. En général, nous avons trouvé la réaction directe, toujours quand la concentration de la bilirubine dans le sérum a dépassé 1/80.000. Dans les cas où la concentration était sous 1/80.000, nous avons mis en évidence la réaction diasoïque seulement par la méthode indirecte. Nous n'avons pas constaté toujours un rapport précis et proportionnel entre la destruction globulaire et la concentration de la bilirubine. Il y a eu des cas dans lesquels la destruction des hématies était très modérée pendant l'accès, et la concentration de la bilirubine augmentée au triple (ex. IV *b*). Au contraire, pendant les accès avec une grande manifestation thermique et des grandes destructions globulaires, la concentration de la bilirubine a montré des chiffres peu variés (ex. II *c*). Dans les considérations et le rapport de la destruction globulaire, et aussi la concentration de la bilirubine, nous devons tenir compte de la capacité de transformation du pigment biliaire (circulation, organe réticulo-endothélial) et la puissance de mobiliser ou éliminer le pigment transformé par le système sus-indiqué. Dans nos courbes, nous avons constaté, dans la majorité des cas, que la concentration de la bilirubine est en rapport inverse avec le nombre des globules rouges détruits. La concentration de la bilirubine commence deux à trois heures après que la courbe thermique commence à monter. A ce moment, le nombre des hématies diminue et aussi le taux des hémoglobines. A peu près toujours, quand la courbe thermique revient à la normale, le nombre des hématies commence à augmenter et aussi le taux de l'hémoglobine, tandis que la concentration de la bilirubine diminue vers le chiffre initial plus ou moins rapidement (ex. II *c*).

La marche inverse entre les courbes des hématies et des hémoglobines d'une part, et de la bilirubine d'autre part, dénote l'utilisation du pigment hématique et sa transformation en pigment biliaire après une courbe variable proportionnelle, décrite plus haut pendant l'accès. Ces faits démontrent que le métabolisme du pigment hématique dans la circulation, cellules réticulo-endothéliales, etc., se passe avec une rapidité extrême. La présomption de certains auteurs que la réaction indirecte de la bilirubine suppose qu'il s'agit d'un pigment avec origine anhépatique, reste encore un problème. Il résulte de nos observations que, pendant l'accès de malaria, au moment où les globules rouges et l'hémoglobine montrent une diminution, la concentration de la bilirubine montre une augmentation et que, très souvent à la fin de l'accès, les chiffres des trois composants reviennent à la normale.

CONCLUSIONS

1° La leucocytose, les courbes leucocytaires et l'index nucléaire pendant les accès de malaria, présentent une évolution plus importante en rapport avec la courbe thermique qu'avec le frisson. Les variations décrites pendant le frisson sont des modifications qui n'ont pas une grande importance à cause des troubles vaso-moteurs déterminés par le choc; la leucocytose est en rapport étroit avec ces variations.

2° La destruction des globules rouges atteint son maximum au moment où la courbe thermique est en plein; en moyenne deux à trois heures après que la courbe thermique commence à monter. Le nombre des globules rouges détruits présente des variations entre 3-800.000 ; ils recommencent l'augmentation quand la courbe thermique descend et revient quelquefois à la normale, ou à peu près à la normale après deux à six heures.

La courbe de l'hémoglobine suit les mêmes variations que celle des globules rouges avec de très petites exceptions.

La régénération de la moelle osseuse, contrôlée par le nombre des réticulocytes, se manifeste par une augmentation du nombre des hématies réticulo-filamenteuses qui, au commencement, lorsque la courbe fébrile monte, montent aussi et puis diminuent quand la fièvre descend vers la fin de l'accès.

3° La concentration de la bilirubine présente un rapport étroit avec la destruction des hématies, avec le maximum d'augmentation deux à trois heures après l'ascension de la courbe thermique, et descend vers la normale quand le nombre des hématies et l'hémoglobine montent.

BILIOGRAPHIE

1. Musso (R.) et Aubertin (Ch.) : La disparition des éosinophiles au cours de la polynucléose infectieuse. » (*Presse Médicale*, n° 85, 1925.)
2. Crespin et Zaki (Aly) : « Physiologie pathologique de l'accès palustre. Courbe de l'hémolyse et de la cholestérinémie. » (*C. R. Soc. Biol.*, 8 mars 1919.)
3. Cordier (V.) : La figure du sang dans le paludisme secondaire. » (*C. R. Soc. Biol.*, 5 avril 1919.)
4. Garin (Ch.) et Affre : « Etude du sang chez les paludéens. » (*Lyon médical*, 1923, n° 8.)
5. Garin (Ch.) : « Etude sur les éléments figurés du sang dans le paludisme. » (*Revue prat. des Malad. des Pays chauds*, Paris, juin 1923.)
6. Goyena (I.-Raoul) : « Las modificaciones de la formula leucocitaria y la imajen neutrofilia de la sangve en las anemias paludicas. » (*Semana Med.*, vol. 33, n° 39, 1926.)
7. Hattori (R.) : « Studien über das Blutbild der Impfmalaria bei der P. G. Fukuoka. » (*Iwadaigalen Zasschi*, an. I, vol. 21, n° 1, 1928 ; réf. *in Bull. of Trop. Dis.*)
8. Schilling (V.) : « Die biologische Einordnung des Malariablutes. » (*C. R. 1er Congrès internat. du Paludisme*, Rome, 1925 ; rec. *Bull. Inst. Pasteur*, t. XXVI, n° 2, 1928.)
9. Schilling (V.), Iossmann (Dr), Hoffmann (Dr K.), Rubischung (Dr) et Speck (Dr V. der) : « Biologisch Klinische Blutsstudien über allgemeine Infektionsfragen an der Impfmalaria der Paralytiker besonders über ihre unspezifische Wirksamkeit. (*Zeit. f. klin.* Med., Bd. 100, p. 742.)
10. Jang (C.-S.) et Berghund (Hilding) : « Difference in Reticulocyte behaviar in Ahemia from Ma Paria and in perniciosus Anemia. » (*Proc. Soc. Expresim. Biol. et Med.*, vol. 26, n° 6, mars 1929.)
11. Chéo-Colombo (Isabella) : « La monocitosi nella malaria Policlinico. » *Sez. Med.*, vol. 31, n° 5, 1er mai 1924.)
12. Larrecka (Santiago) : « Estudio hematologico de treinta paludicos. » (*Sieglo Med.*, vol. 75, 1925.)
13. Vitetti (G.) et Pallitzer (K.) : « Stata degli organi hematopoetici nell' infezione malarica del bambino. » (*Pediatria*, n° 18, 1925.)
14. Sefeco (W.-G.) et Botschkareff (P.-V.) : « Sur quelques propriétés morphologiques du sang dans le paludisme. » (*Bull. de la Soc. de Pathol. exotique*, vol. 17, 1924.)
15. Wolsky-Schewelewa : « Zur Frage der Bilirubinemi e bei Malaria. » (*Trop. Hyg.*, Bd. 33, n° 4, p. 210.)

16. Wolsky-Schwelewa : « Zur Pathogenesis der Anémie bei Malaria. » (*Arch. Trop.*, Bd. 32, n° 3, p. 121.)

17. Sachsuwarly (M.) : « Das Verhalten des Serumbilirubins bei Malaria. » (*Arch. Trop.*, Bd. 31, n° 9, p. 399.)

18. Max (E.) : « Die Verwertbarkeit der Schillingschen Hemogrammethode im klinischen Betrieb. » (*Deutsch. Arch. f. klin. Med.*, Bd. 149, H. 1-2, 1925.)

19. Lupu-Missirliu : « Un cas de paludisme chronique avec polynucléose. » (*Soc. méd. Hôp. Bucarest*, n° 2, 1927.)

20. Tedesco (P.-A.) : « L'emogramma di Schilling nella malaria. » (*Ahi di Soc. Cult. Sc. med. e nat.*, Cagliasi, an. II, 1927.)

21. Bianchi (A.-E.) : « Notas sobre la hematologia de paludismo. » (*Bol. Inst. de Clin. quir Buenos-Ayres*, t. 2, n^{os} 14-15-16, 1926.)

22. Ssarkessjan et Kragetjais : « Differentielle Lenkozytenzählung und Kernverschelung der Neutrophilen bei Malaria in abhägigkeit von dem Entwicklunstyphus der Parasiten. » (*Ref. Kongresszeit. Blatt*, 46, S. 169, 1926.)

Le Gérant : J. Caroujat. NIORT. — IMP. TH. MARTIN.